

OUTLINES OF
BIOCHEMISTRY

生物化學

下 冊

Conn & Stumpf 原著

徐 嘉 義 編譯

新興圖書公司

OUTLINES OF
BIOCHEMISTRY

生物化學

下 册

徐 嘉 義 編譯



新興圖書公司

22175

中科院植物所图书馆



S0014726

生物化學 下冊
徐嘉義 編譯

出版：新興圖書公司

發行：時代圖書有限公司

香港九龍彌敦道500號一樓

3-308884

印刷：毅昌印刷公司

版權所有 * 不准翻印

1974年5月版

2515

下 冊

目 錄

第十一章 戊糖磷酸途徑..... 363

11-1 引言..... 363

11-2 戊糖磷酸途徑之

酶類..... 364

11-3 非氧化性“相”之

摘要..... 370

11-4 戊糖磷酸途徑之

意義..... 371

11-5 Enter-Doudoroff

途徑..... 372

習題..... 373

第十二章 三羧(基)酸循環..... 374

12-1 引言..... 374

12-2 史話..... 374

12-3 丙酮酸變為乙

醯基-CoA之氧

化作用..... 376

12-4 三羧酸循環之諸

反應..... 379

12-5 三羧酸循環之意義... 384

12-6 三羧酸循環之調節... 387

12-7 Krebs循環之組成

代謝的性質..... 387

12-8 乙醛酸循環..... 391

12-9 線粒體之分區作用... 393

習題..... 395

第十三章 脂質之代謝作用..... 397

13-1 引言..... 397

13-2 飲食的脂質之變遷... 398

13-3 腺腔..... 398

13-4 上皮細胞及乳糜

微粒..... 399

13-5 脂肪組織..... 401

13-6 肝臟..... 404

13-7 不飽和脂肪酸之

氧化作用..... 412

13-8 丙酸之氧化作用..... 413

13-9 酮體之形成..... 414

13-10 脂肪酸類之生物合成 415

13-11 葡萄糖與脂肪

合成之比較..... 422

13-12 棕櫚酸延長成爲

硬脂酸..... 422

13-13 不飽和脂肪酸之 生物合成.....	424	13-16 胆甾醇 (即胆固醇) 之生物合成.....	432
13-14 磷脂之生物合成.....	428	13-17 胆固醇合成之 調節作用.....	435
13-15 神經鞘類脂物 之生物合成.....	430	習題.....	436

第十四章 電子傳遞及氧化性磷酸化作用..... 438

14-1 引言.....	438	14-7 氧化性磷酸化 作用之機程.....	454
14-2 在電子傳遞中 涉及的成分.....	439	14-8 加氧酶類.....	457
14-3 呼吸鏈鎖.....	445	14-9 線粒體之滲透性.....	460
14-4 氧化性的磷酸 化作用.....	446	14-10 碳水化合物, 脂類 及氨基酸代謝反應的 集合.....	462
14-5 氧化性磷酸化 作用之能學.....	449	習題.....	467
14-6 能量轉變程序.....	453		

第十五章 光合成..... 469

15-1 引言.....	469	15-11 光合作之 量子需要.....	488
15-2 光合成的早期研究.....	470	15-12 在細菌中之還 原性羧基化 反應.....	489
15-3 光合成的器官.....	473	15-13 C_4 途徑.....	490
15-4 光之性質.....	476	15-14 由葉綠體傳遞 ATP 及 NADPH 至 細胞膠體.....	494
15-5 被葉綠素吸收的光.....	477	15-15 光合成之調節.....	495
15-6 能量轉變程序.....	477	15-16 光呼吸.....	497
15-7 非環狀磷酸 化作用.....	481	習題.....	501
15-8 環狀磷酸化作用.....	482		
15-9 在細菌的光合中之 電子流.....	482		
15-10 碳之途徑.....	483		

第十六章 氮及硫之循環..... 502

- | | |
|-----------------------------|-------------------------------|
| 16-1 引言..... 502 | 16-7 硝酸根離子
之利用..... 512 |
| 16-2 非生物性氮固定..... 503 | 16-8 硫循環..... 513 |
| 16-3 生物的固定氮法..... 503 | 16-9 硫酸鹽呼吸作用..... 519 |
| 16-4 氮之同化作用..... 507 | 16-10 由有機化合物釋出
之硫..... 519 |
| 16-5 氮固定酶活性
之控制..... 510 | 習題..... 520 |
| 16-6 硝化作用..... 511 | |

第十七章 氮及含氮聚合元之代謝作用..... 522

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------------------|
| 17-1 引言..... 522 | 17-15 嘌呤生物合成..... 554 |
| 17-2 氮均衡之研究..... 523 | 17-16 嘌呤核甙酸
間之互變..... 561 |
| 17-3 氮化合物之動力學
的代謝作用..... 524 | 17-17 嘌呤核甙酸
生物合成之
調節作用..... 563 |
| 17-4 氨基酸之一般反應..... 525 | 17-18 嘧啶之生物
合成..... 564 |
| 17-5 氨基酸類之代謝
的命運..... 533 | 17-19 二磷酸鹽類及
三磷酸鹽類之
合成..... 567 |
| 17-6 NH_3 之同化作用..... 534 | 17-20 脫氧核糖酸
之形成..... 568 |
| 17-7 尿素循環..... 538 | 17-20 胸腺嘧啶生物
合成..... 569 |
| 17-8 氮素排泄之比較
生物化學..... 541 | 17-22 對嘌呤及嘧啶
核甙酸類修復
機程..... 570 |
| 17-9 尿酸之形成..... 543 | 習題..... 573 |
| 17-10 氨基酸代謝之組成
代謝的景象..... 545 | |
| 17-11 含硫氨基酸類之代謝..... 546 | |
| 17-12 氨基酸類爲其他化合
物之先質..... 549 | |
| 17-13 嘧啶生物合成..... 550 | |
| 17-14 四吡咯合成之
調節作用..... 553 | |

第三篇 資料性分子之代謝作用..... 575

第十八章 核酸類之生物合成..... 577

- | | |
|----------------------|-------------------------------|
| 18-1 引言..... 577 | 18-7 RNA 轉寫的
生物合成..... 594 |
| 18-2 定義..... 577 | 18-8 修正..... 599 |
| 18-3 複製..... 580 | 18-9 聚核貳酸磷
酸化酶..... 599 |
| 18-4 逆轉寫..... 589 | 習題..... 600 |
| 18-5 突變(變種)..... 589 | |
| 18-6 修復機程..... 592 | |

第十九章 蛋白質之生物合成..... 602

- | | |
|----------------------------|---------------------------------|
| 19-1 麩醯胺..... 602 | 19-9 蛋白質合成..... 620 |
| 19-2 馬尿酸..... 603 | 19-10 體外完全蛋
白質之合成..... 626 |
| 19-3 穀胱甘肽..... 603 | 19-11 蛋白質之化學合成... 628 |
| 19-4 環狀多肽..... 605 | 19-12 胰島素之生物
合成..... 631 |
| 19-5 蛋白質合成之
成份..... 607 | 19-13 在代謝作用中之
遺傳的缺陷..... 631 |
| 19-6 基因密碼..... 612 | 習題..... 635 |
| 19-7 傳遞者 RNA 616 | |
| 19-8 核酸體..... 617 | |

第二十章 代謝的調節作用..... 636

- | | |
|------------------------------|---|
| 20-1 引言..... 636 | 適應的變化..... 652 |
| 20-2 酶之分區..... 636 | 20-8 阻遏及誘導：
藉轉寫作用之
調節控制酶合成..... 653 |
| 20-3 對立的單向反應..... 638 | 20-9 分解代謝產物
阻遏..... 658 |
| 20-4 動力的因子..... 640 | 20-10 結論..... 659 |
| 20-5 調節酶類之化
學的修改..... 644 | 習題..... 660 |
| 20-6 階式系統..... 649 | |
| 20-7 在酶含量中之 | |

附錄 I	緩衝液及 pH 問題	661
A-1.1	二次方程式之求解 ...	661
A-1.3	pH 問題	664
A-2.2	對數之溫習	662
A-1.4	習題	667
附錄 II	生物化學之實驗法	669
A-2.1	目標	669
A-2.8	離子交換	679
A-2.2	玻璃電極	669
A-2.9	膠體過濾法	681
A-2.3	同位素方法	671
A-2.10	酶類之純製	683
A-2.4	分光光度測定法	673
A-2.11	純度之規範	685
A-2.5	氣體色析法	675
A-2.12	決定一蛋白質 中氨基酸順序的 方法	690
A-2.6	紙色析法	676
A-2.7	薄層色析法	678
索引		695

第十一章

戊糖磷酸途徑

Pentose Phosphate Pathway

目標 要陳述的是戊糖磷酸途徑 (pentose phosphate pathway), 又稱磷酸葡萄糖酸途徑 (phosphogluconic acid pathway) 之反應。此途徑之不可逆及可逆的部分均可鑑定, 且可討論其在生物合成代謝順序中的任務。

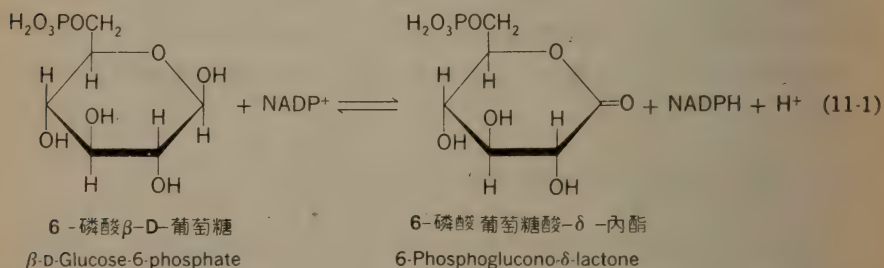
11-1 引言 (Introduction)

在前章中所描述的 Embden-Meyerhof 圖解是降解葡萄糖部分的機程, 且對細胞以 ATP 方式得到能量。這順序無疑地是有關生命形式所需的首先幾種代謝程序。因生命組織變化更複雜, 對於生物合成本領需要發展一套超過糖酵解系統之中間體所表示的程序, 尤其需要在生物合成中對還原本領之來源發展一套程序。因在糖酵解系統中, 某部分產生的還原劑, NADH, 在另一部分中被消耗, 能產生一不同還原劑之反應大概是經過選擇的。現在要描述的戊糖 - 磷酸途徑含有兩種能產生還原劑 NADPH 的反應。再者, 此途徑也產生一些不同的糖磷酸鹽類。

對於葡萄糖之代謝有另外一條途徑, 指陳在若干組織中糖酵解之古典的抑制劑, 碘醋酸及氟化物, 在葡萄糖的應用上並無效果。此外, Warburg 之實驗結果發現 NADP^+ 及 6-磷酸葡萄糖之氧化為 6-磷酸葡萄糖酸 (6-phosphogluconic acid) 導致葡萄糖分子進入一代謝作用的陌生領域中。再者, 用碳 - 十四可以顯示在若干步驟中葡萄糖中 C - 1 之碳原子以碳 - 14 標識時, 此放射性碳比標識在 C - 6 位置者更易氧化之為 $^{14}\text{CO}_2$, 若糖酵解程序其意義僅為葡萄糖能轉變為丙酮酸 - $3\text{-}^{14}\text{C}$, 且繼續再分裂為 CO_2 , 則 $^{14}\text{CO}_2$ 應以相等的反應率由葡萄糖 - $1\text{-}^{14}\text{C}$ 及葡萄糖 - $6\text{-}^{14}\text{C}$ 中生產出來。此等觀察刺激研究工作, 且得結果勾劃出戊糖磷酸之途徑。此途徑刊在本書後封裡。含有一個不可逆的氧化部分及一個可逆的非氧化部分。

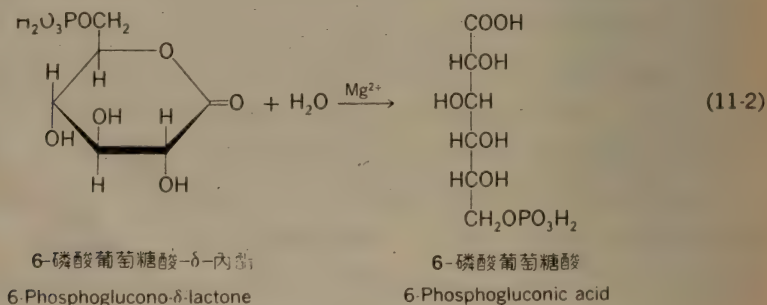
11-2 戊糖磷酸途徑之酶類 (Enzymes of the Pentose Phosphate Pathway)

11-2-1 6-磷酸葡萄糖去氫酶 (Glucose-6-phosphate Dehydrogenase) 此程序之氧化的不可逆部分以酶類 6-磷酸葡萄糖脫氫酶為催化的反應開始。Warburg 氏發現此酶及其輔酶 NADP^+ 如前述者 (第 8-1 節)，此酶催化如下之反應：

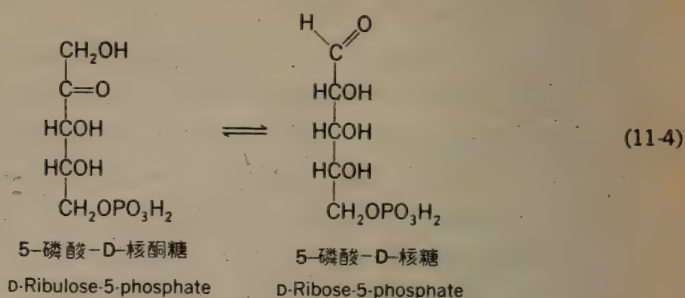


雖然原來以為此生成物是磷酸葡萄糖酸，但有很好的證據顯示乃此酸之 δ -內酯，為第一種生成物。此反應是可逆的，因 NADPH 之氧化發生在酶及內酯之環境中。易於想像由受質而來的吡喃糖基型 (pyranosyl form) 涉及兩個氫原子的移出，而結果有內酯之形成。此內酯不安定且立刻水解成 6-磷酸葡萄糖酸。

此反應受代謝之控制，實不足驚奇，需要的 NADP^+ 在前向反應中與 NADPH 起競爭性的抑制作用均在戊糖磷酸途徑中是一項有意義的功能。

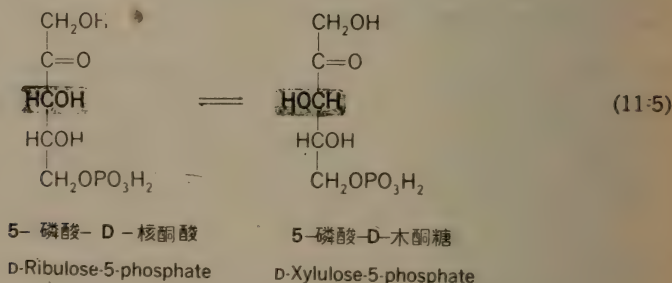


故與磷酸己糖異構酶之於糖酵解作用亦頗類似（第 10-4-2 項）。此反應由左至右之 K_{eq} 值約為 3：



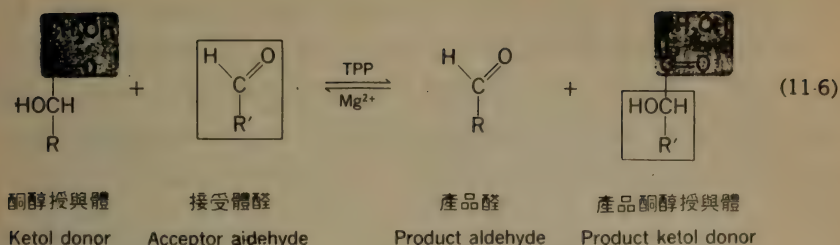
11-2-5 磷酸戊酮糖差向異構酶（Phosphoketopentose epimerase）

此第二異構化作用涉及 5-磷酸-D-核酮糖被磷酸戊酮糖差向異構酶之催化。其 K_{eq} 為 0.8：

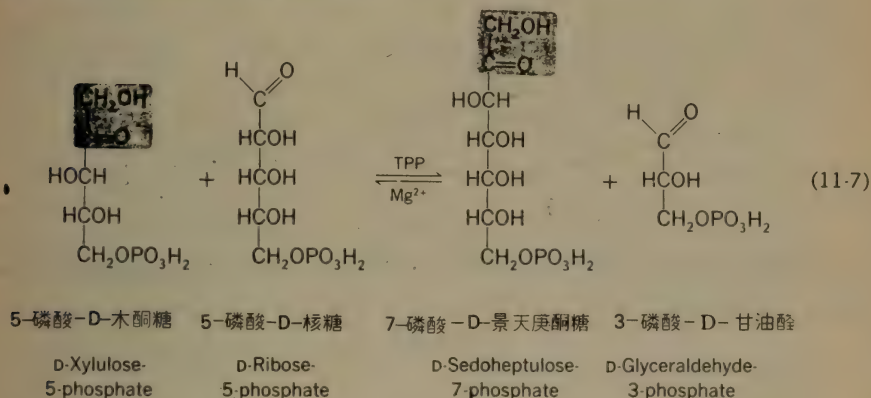


此反應之機程未詳，或可能涉及烯二醇（enediol）為中間體。

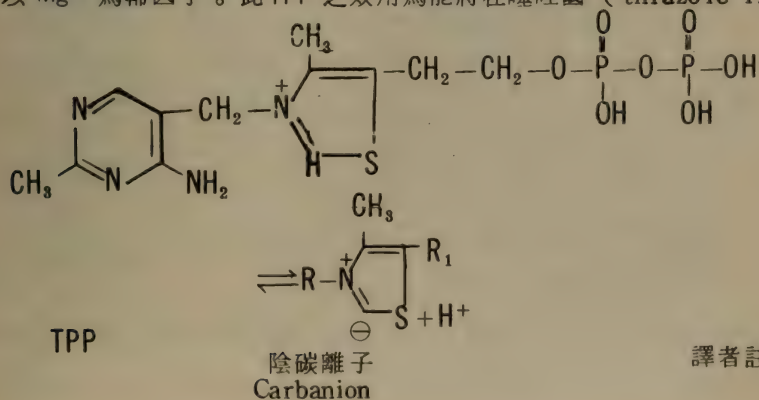
11-2-6 酮糖移轉酶（transketolase） 就此點言，此途徑與 6-磷酸葡萄糖之己糖鍵氧化性分解及生成之戊糖磷酸間的相互關係有關。但研究此等反應時，泰半在酵母及細菌中顯示尚有其他糖類，包括庚糖（heptose）、丁糖（tetrose）及丙糖在內均有生成。當酮糖移轉酶發現及陳述後，在戊糖及此等其他糖間之關係始更明朗化。此等酶類催化酮基之移轉乃由一授與分子的醛至另一接受分子的醛。其一般反應圖解如下：



在一特殊步驟中，酮糖移轉酶催化 5-磷酸木酮糖之酮醇基至 5-磷酸核糖上而形成 7-磷酸景天庚酮糖 (sedoheptulose-7-phosphate) 及 3-磷酸甘油醛 (glyceraldehyde-3-phosphate)：

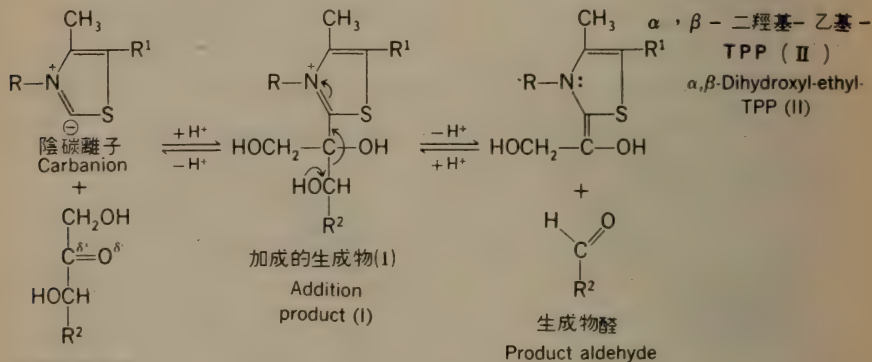


酮糖移轉酶需要焦磷酸硫胺素 TPP (thiamin pyrophosphate, TPP) 及以 Mg^{2+} 為輔因子。此 TPP 之效用為能將在噻唑環 (thiazole ring) 上

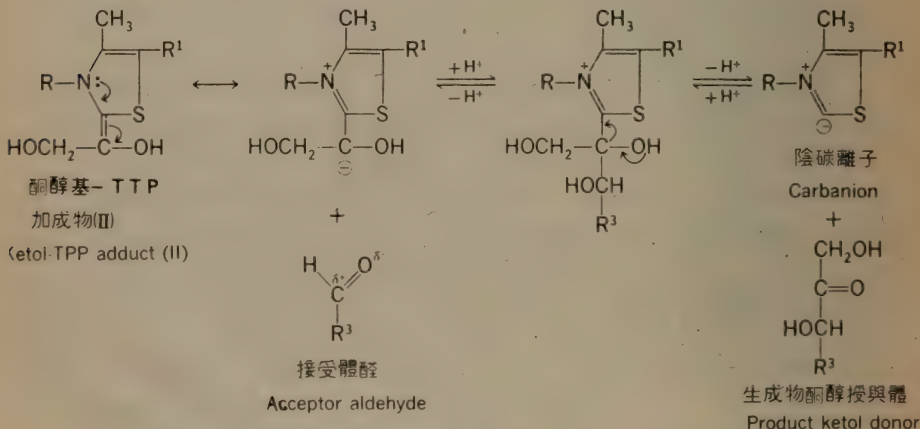


之 C-2 碳原子上的一個質子，脫離而形成一陰碳離子 (carbanion)。

此生成之陰碳離子能與酮醇授與體相化合而形成一加成物 I，此物再適當排列電子，能以另一種解離方式使之形成醛之產物，及將 TPP 上之酮醇基脫離而得 α, β -二羥基乙基焦磷酸硫胺素 (II) [α, β -dihydroxy ethyl-thiamine pyrophosphate (II)]。



酮醇基-TPP 加成物 II 能再與一接受體醛化合而成酮醇基授與體生成物且再產生碳陰離子。



酮基移轉酶亦可催化一酮基由 5-磷酸木酮糖至 4-磷酸原藻糖上而形成 6-磷酸果糖及 3-磷酸甘油醛 (見內封裡)。因此反應與反應 11-7 相同易於

逆轉，可將以下各化合物分別列為酶之接受體醛及授與體分子兩類。

酮醇授與體 (酮糖)

接受體醛 (醛糖)

Ketol, Donors (Ketoses)

Acceptor Aldehydes (Aldoses)

D- 木酮糖 -5- PO_4

D-核糖 -5- PO_4

(D-Xylulose-5- PO_4)

(D-Ribose-5- PO_4)

D- 果糖 -6- PO_4

D-甘油醛 -3- PO_4

(D-Fructose-6- PO_4)

(D-Glyceraldehyde-3- PO_4)

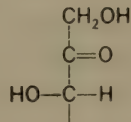
D- 景天庚酮糖 -7- PO_4

D-原藻糖 -4- PO_4

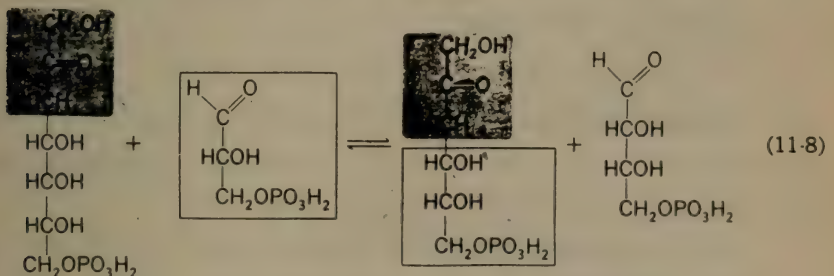
(D-Sedoheptulose-7- PO_4)

(D-Erythrose-4- PO_4)

值得注意的是所有授與體酮糖均有 L- 組態在 C-3 位置上。



11-2-7 醛糖移轉酶 (transaldolase) 此酶，肖似酮糖移轉酶，乃催化移轉 6- 磷酸果糖之二羥基丙酮部分或 7- 磷酸景天庚酮糖二羥基丙酮部分為適當之醛糖。已在戊糖磷酸代謝之圖解中表明接受體醛糖可能是 3- 磷酸甘油醛或在相反的方向中為 4- 磷酸原藻糖。



7- 磷酸-D -
景天庚酮糖

3- 磷酸-D -
甘油醛

6- 磷酸-D -
果糖

4- 磷酸-D -
原藻糖

D-Sedoheptulose-
7-phosphate

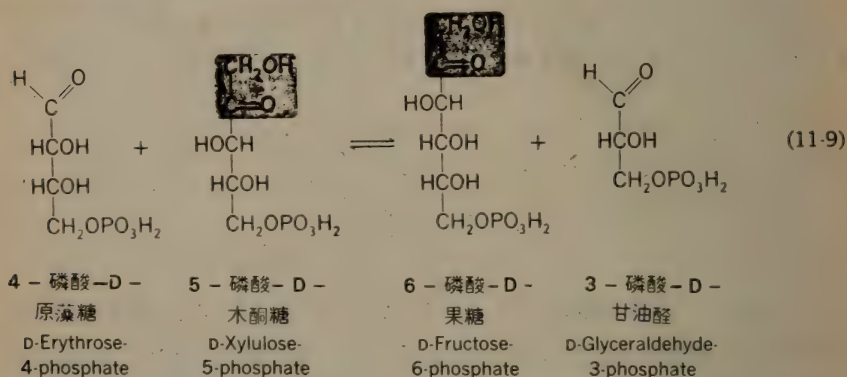
D-Glyceraldehyde-
3-phosphate

D-Fructose-
6-phosphate

D-Erythrose-
4-phosphate

5- 磷酸核糖亦可能是一接受體，在此場合生成一辛糖，即 8- 磷酸辛糖。此酶的機程涉及一中間物Schiff鹽基之形成，此鹽基即在此酸中，一賴氨酸殘基 (lysine residue) 中羧基之轉變二羰基部分及 α - 氨基原子團間之鹽基，此機程與糖酵解中之醛縮酶的情形類似 (10-4-4 項)，但轉變醛縮酸不能用自由二羰基丙酮或其磷酸鹽為受質。

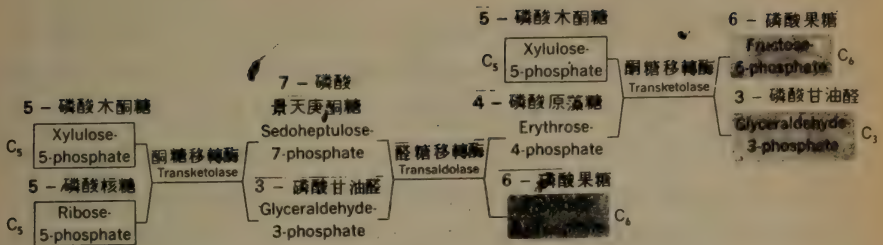
最後，完成戊糖磷酸途徑，4- 磷酸原藻糖在反應 11-8 中生成，能接受由 5- 磷酸木酮糖處而來的 C_2 一單位，在一反應中亦可能被醛糖移轉酶催化為 6- 磷酸果糖及 3- 磷酸甘油醛。



11-3 非氧化性“相”之摘要 (Summary of the non-oxidative Phase)

在戊糖磷酸途徑之非氧化部分中發生的三糖、四糖、戊糖、己糖以及庚糖磷酸之相互轉變 (反應 11-7, 11-8 及 11-9) 能相混淆。此等被酮糖移轉酶及醛糖移轉酶催化反應之其他表示方式如下頁圖解。

在方框中之三個戊糖分子在此圖解中可視為反應物，而標有陰影之三種分子乃生成物，見此圖解組成一個易於可逆的機程，即由 6-磷酸 - 葡萄糖氧化衍生之戊糖類，所造成的己糖及三糖中間體機程是可逆的。所以由左至右在 3 個戊糖分子中 15 個碳原子變為在 2 個己糖分子及 1 個三糖分子中之 15 個碳原子。在逆轉方向中此圖解能解釋由糖酵解之中間體形成戊糖衍生物。以後若討論戊糖磷酸途徑之任務，亦將見及此等關係之重要性。



11-4 戊糖磷酸途徑之意義 (Significance of the Pentose Phosphate Pathway)

戊糖磷酸途徑之詳情已瞭解時，往往便要對葡萄糖之代謝問題討論另一途徑了。對此新途徑工作已有進展，在反應 11-1 及 11-3 中還原的 NADPH 再氧化需要一機程。因 NADPH 之再氧化並無偶聯的反應（類似在糖酵解作用中的發生，NADH 再氧化作用），設想氧化作用是藉綫粒體的電子傳遞鏈鎖實行的（第十四章）。當廣續的顯示 NADPH，與 NADH 成對比，不易被呼吸鏈鎖所氧化，產生的 NADPH 之其他任務及其再氧化作用也已探索中。

現已確定 NADPH，與 NADH 成對比，在許多生物合成反應中是一種重要的角色，即一還原劑。無論在何處生物合成步驟總涉及用一菸醯胺核武酸之還原反應，酶則為 NADPH，只有少數的例外。戊糖磷酸途徑則轉而為一產生 NADPH 時之主要機程。

其功能之一實例為在生物合成長鏈脂肪酸及類甾醇（steroid）中特別要使用 NADPH。這是一種還原劑，用於葡萄糖之還原為山梨糖醇（sorbitol），二氫葉酸（dihydrofolic acid）之還原為四氫葉酸，以及葡萄糖醛酸（glucuronic acid）之還原為古羅糖酸（gulonic acid）。此外，NADPH 亦用於丙酮酸之還原性羧酸化作用藉蘋果酸酶而成蘋果酸。最後，NADPH 在涉及形成不飽和脂肪酸之還基化作用中行使獨特的任務，轉變苯基丙胺酸為酪氨酸，及形成某些類甾醇。為生物合成目標產生 NADPH，戊

糖磷酸途徑的任務可由途徑中酶類特別在各種組織諸如動物性脂肪的組織，哺乳類腺體，或腎上腺皮質上行使此等生物合成之顯著事實得以證明。

可以想像得到一器官由戊糖磷酸途徑的氧化性“相”對於產生 NADPH 的需要要比同時形成戊糖大得多。立即轉變的戊糖而產生己糖及三糖（第 11-3 節）顯然排除任何困難歸因於過量的戊糖。但應指出戊糖之一種，核糖自然對於核酸之合成是所有細胞所需要的。注意戊糖磷酸途徑不需要額外的 ATP，不與由 Krebs 循環產生的代謝物質有關，且對生物合成爲 NADPH 之要求可能首先被調節，因 NADPH 或者並不經過呼吸連鎖氧化至任何程度。

此外，在植物及微生物內生物合成途徑之第一步驟中 4-磷酸-原藻糖反應 11-8) 是需要的，導致莽草酸 (shikimic acid) 及廣積的變成氨酸。

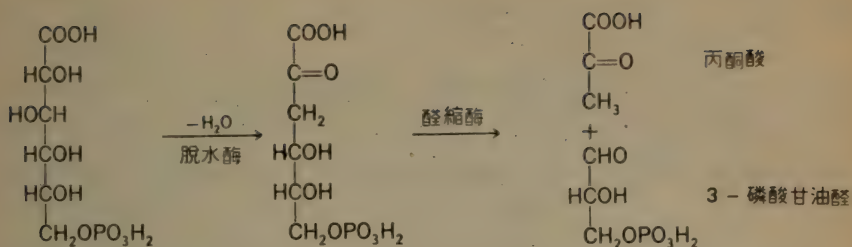
至於 5-磷酸核糖及 4-磷酸原藻糖能由 6-磷酸葡萄糖經不可逆的氧化性“相”產生，它也能由 6-磷酸果糖及 3-磷酸甘油醛經反應 11-9, 11-8, 以及 11-7 之逆轉而生成，故細胞能使用不是氧化性便是非氧化性程序來形成此等重要中間物。以後會看見這後一種程序也能藉光合成的組織用來產生光合成中 CO_2 還原循環的基本中間物。（第十五章）

11-5 Entner-Doudoroff 途徑 (Entner-Doudoroff Pathway)

若干細菌〔例如假單胞菌 (pseudomonads)，固定氮菌 (azotobacter sp.)〕缺乏磷酸果糖激酶 (phosphofructokinase)，故不能藉糖酵解程序降解葡萄糖。此等組織却有原始的葡萄糖分解代謝便是藉反應 11-1 及 11-2 產生 6-磷酸葡萄糖酸。此酸於是受脫水作用及重組反應而形成一個 α -酮脫氧糖磷酸 (α -ketodeoxy sugar phosphate) 此物轉而被醛縮酶一型之酶分裂成丙酮酸及 3-磷酸-甘油醛 (見下頁圖解。)

此圖解之變體亦可使其他糖類 (半乳糖) 及糖酸類 (D-葡萄糖酸, D-半乳糖酸) 行代謝作用，但有一主要特徵是產生一種 2-酮基-3-脫氧中間物，此物能在磷酸化以後分裂。

對於葡萄糖及其他糖類之代謝已知尚有其他途徑，但非本書之討論範圍矣。



參 考 文 獻

1. B. Axelrod, "Other Pathways of Carbohydrate Metabolism," in *Metabolic Pathways*, D. M. Greenberg, ed. 3rd ed. New York: Academic Press, 1967.
 是一本對於戊糖磷酸途徑也和對其他葡萄糖及相關之糖類代謝途徑寫的一樣好的書籍。
2. R. Y. Stanier, M. Doudoroff, and E. A. Adelberg, *The Microbial World*. 4th ed. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall, 1975.
 這本標準的微生物學教本，有幾點是關於代謝作用的，包括藉微生物之各種代謝圖解的利用。
3. B. L. Horecker, *Pentose Metabolism in Bacteria*. New York: Wiley, 1962.
 大量有關戊糖循環方面的貢獻均做摘要一覽。

習 題

1. 若 6-磷酸果糖及 4-磷酸原藻糖用做反應物，藉酮基移轉酶之催化反應生成物是什麼？
2. 為能量問題葡萄糖降解在一所與組織器官中不論用的是糖酵解，還是戊糖磷酸途徑，或二者之混合情形，試舉出測定的實驗（至少要包括四種不同型式的實驗）。

第十二章

三羧(基)酸循環

The Tricarboxylic Acid Cycle

目標 有關丙酮酸氧化為乙醯基 - CoA，以及進而由其硫酯氧化為 CO_2 及水經過三羧酸循環之各個反應均詳加陳述。乃依據此循環之化學計量學的討論，及其他有關此循環之功能。要討論組成補充的反應 (anaplerotic reactions) 之性質及任務，最後再描述乙醛酸循環 (glyoxylic acid cycle)，這種三羧酸循環 (tricarboxylic acid cycle) 之修正形式。

12-1 引言 (Introduction)

三羧酸或檸檬酸循環是醋酸 (乙醯基 - CoA 形式) 被完全氧化為 CO_2 及水。因乙醯基 - CoA 易由丙酮酸產生，此循環也能將葡萄糖完全氧化為 CO_2 及 H_2O 。由受質移去之電子乃被氧化，而最後傳遞至分子氧處；故此程序是一種需氧的。發展此代謝的廣續反應必須延遲至綠色植物之光合成已展開且大氣中氧之含量已增大至足夠維持呼吸作用才行。選擇性的程序 (及現在構成的需氧呼吸的反應) 均在有機受質之化學能量釋出中有高效能，因均能將碳原子氧化為 CO_2 。

12-2 史話 (Historical)

在曝露於空氣中而受刺激的肌肉內不能積聚乳酸，此點指陳進一步的乳酸代謝分解在此組織中發生。其他有機酸在肌肉中亦知有被代謝的，乃 1920 年為 Thunberg 氏所揭露，即約有四十餘種化合物在各種均漿 (homogenates) 組織中被空氣氧化。若干更快速被氧化的物質為琥珀酸 (succinic acid)，反-丁烯二酸 (fumaric acid)，以及檸檬酸。一更複雜的關係亦被 Szent-Gyorgyi 氏之研究所揭發，氏報導若干此等酸類顯示可催化在肝均漿中未知

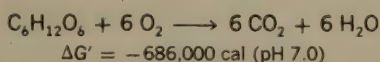
受質之氧化反應。故應有之反-丁烯二酸量使之汲取 20μ 升的 O_2 。若完全用鴿之胸肌均漿添入以氧化之，則顯示有實際上七倍的氧消耗量。

在酵母及肌肉中之糖酵解程序顯示被動物組織氧化更進而成為 CO_2 及 H_2O 的化合物是丙酮酸及乳酸。Szent-Gyorgyi 氏繼續指陳切碎的鴿胸肌可將丙酮酸氧化更為完全。生物學家 Keilin, Martius, Knoop, Baumann, Ochoa 及 Lipmann 諸氏亦提供有關代謝途徑之知識。

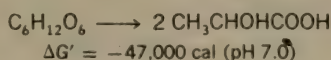
此等研究之最重要的生物化學家為英國之 Hans Krebs 爵士。於 1937 年氏之研究說明丙酮酸氧化為 CO_2 及 H_2O 之反應循環情形。雖有若干輕微之修正，但本書之正封裡所刊之圖解本質上仍係 Krebs 氏在 1937 年所提示者，因其貢獻偉大故往往以 Krebs 循環稱之。Krebs 本人則稱之為三羧酸循環 (tricarboxylic acid cycle)。在 1953 年；因其重大發現而得諾貝爾醫學獎。

有一著名的發現是 E.P. Kennedy 及 A.L. Lehninger 兩氏在 1948 年完成的，他們發現鼠肝綫粒體能催化丙酮酸之氧化，以及所有三羧酸循環之中間體之被分子氧的氧化。因僅 Mg^{2+} 及腺甙酸 (ATP, ADP, 或 AMP) 必須添加，這發現的意義是綫粒體不僅含有三羧酸循環之所有酶類，而且也需要由受質傳送電子至分子氧中。廣續的研究工作顯示在此循環中需要的若干酶類 (即蘋果酸脫氫酶，反丁烯二酸酶，烏頭酸酶) 均在細胞質中發現了，但其催化反應均與綫粒體氧化程序獨立無關的。(第九章)

在詳細討論此循環之前不可不先指出，被一生命機構更進一步氧化丙酮酸及乳酸之事實對能量產生之論證有重大的意義。葡萄糖完全氧化為 CO_2 及 H_2O 之自由能變化為 -686 kcal 。

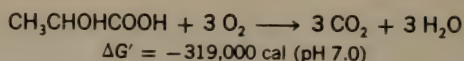


在第 10-6 節中已指陳由葡萄糖變成乳酸之 $\Delta G'$ 約為 -47 kcal 。



意即糖酵解形成乳糖時葡萄糖分子之有效能量約僅 7 % 釋出。而約有一 639,000 cal 之能留待由原來葡萄糖而成之二莫耳乳酸完全氧化時再釋出。

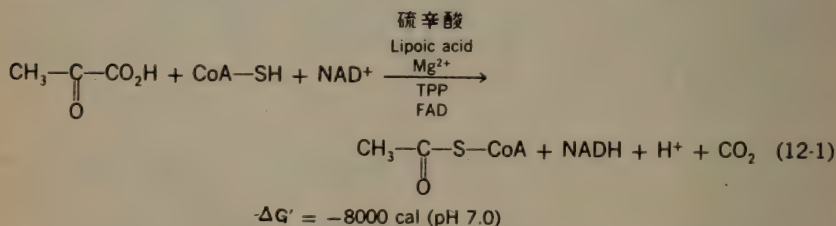
故每莫耳乳酸之 $\Delta G'$ 可計算得為 $-319,500 \text{ cal}$ 。



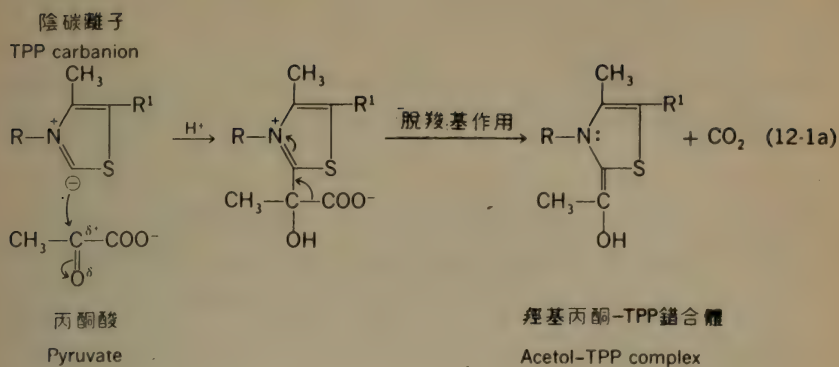
請讀者亦應體會葡萄糖好氣性的被生命機構氧化為 CO_2 及 H_2O 不必一定亦有乳酸之生成做為一中間步驟。而在糖酵解中生成之關鍵生成物不是被還原為乳酸，便是被完全氧化為 CO_2 及 H_2O ，此關鍵化合物即丙酮酸。此等完成氧化反應步驟之各個過程今將討論之。

12-3 丙酮酸變為乙醯基-CoA 之氧化作用 (Oxidation of Pyruvate to Acetyl-CoA)

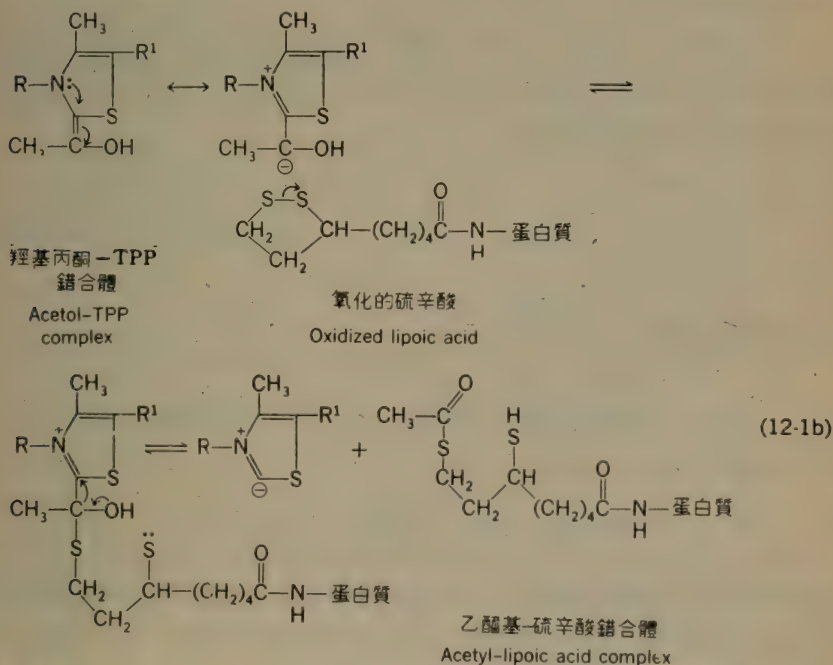
嚴格地說，丙酮酸在三羧酸循環中不是一種中間物。 α -酮酸 (α -keto acid) 首先轉變為乙醯基-CoA，便是藉多重酶錯合體 (multienzyme complex) 稱為“丙酮酸脫氫酶錯合體 (pyruvic dehydrogenase complex)”而成的。此轉變乃在線粒體中進行，一個 α 氧化性脫羧基作用在糖酵解過程中在細胞膠體 (cytosol) 內繼續形成丙酮酸，此反應涉及六種輔因子：輔酶A, NAD^+ , 硫辛酸, FAD , Mg^{2+} , 及焦磷酸硫胺素 (TPP) (thiamine pyrophosphate)。



全反應可分割為部分的反應，以三種原來組成此多重酶錯合體之各個分離的酶類來催化之。在原始反應中，丙酮酸脫羧基而成 CO_2 及一個 TPP 之羧基丙酮錯合體 (acetol complex)，此物與此等酶類中之一種，即丙酮酸脫氫酶 (pyruvic dehydrogenase) 密切聯結。



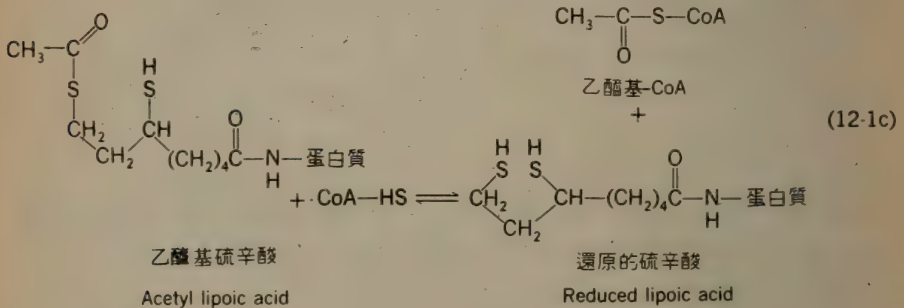
此二碳之羥基丙酮原子團隨即傳遞至一被氧化的硫辛酸部分，以共價鍵合於此複合體的第二個酶，二羥辛硫醯轉乙酰酶（dihydrolipoyl transacetylase）（圖解12-1）：



圖解12-1

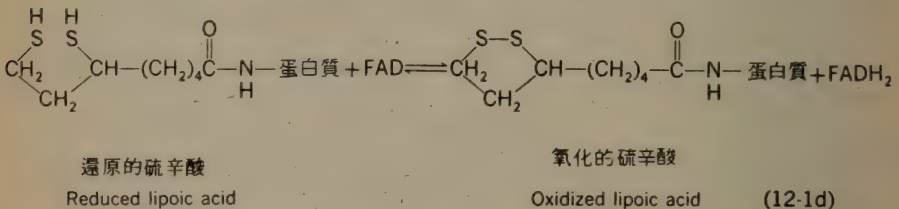
注意，此反應之一結果，一高能的硫酯（還原的硫辛酸）已形成，且此“二碳單位”現在是在醋酸的氧化性階段上而不是在乙醛上。

在第三個反應（圖解 12-2）中乙醯基傳遞至輔酶A 上，而形成乙醯基-CoA，此物由酶離解為一自由形式，為全反應（反應 12-1）之生成物中的一種：

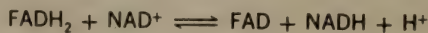


圖解 12-2

二氢硫辛醯基脫氫酶（dihydrolipoyl dehydrogenase）之還原的硫辛酸部分於是以錯合體的第三種酶，二氢硫辛醯脫氫酶亦氧化為環狀硫辛醯形式，一種含有 FAD 的黃素蛋白質：



最後，此還原的黃素輔酶再被 NAD^+ 氧化之，這是一種全反應（反應 12-1）中之反應物，且產生 NADH ：



注意被丙酮酸脫氫酶錯合體催化的各部分反應之全部均屬可逆的除了原先的脫羧基反應為例外。此第一步驟的不可逆的性質造成全部反應（反應 12-1）之不可逆性，其 $\Delta G'$ 已估計約為 $-8,000 \text{ cal}$ 。

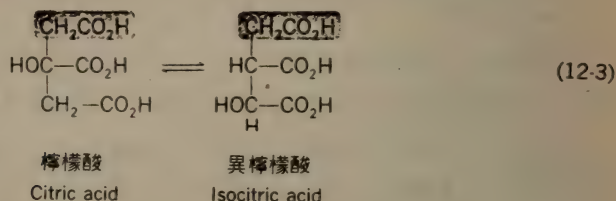
丙酮酸脫氫酶複合體已由豬心及大腸菌中之綫粒體單離出來，分子量為

4.8×10^6 ，若干此酶錯合體之性質已在第 7-11-5 項中討論了。

12-4 三羧酸循環之諸反應 (Reactions of the Tricarboxylic Acid Cycle)

調節劑。

12-4-2 烏頭酸酶 (Aconitase) 用烏頭酸酶 (aconitase) 行有趣的催化反應是將檸檬酸異構化而成異檸檬酸 (isocitric acid)。



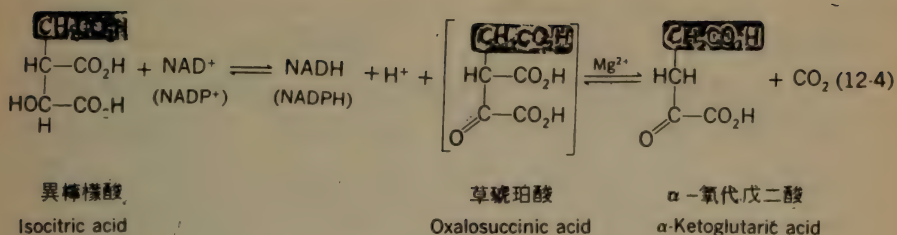
平衡時，檸檬酸與異檸檬酸之比約為 15。

烏頭酸酶需要 Fe^{2+} ，亦可催化檸檬酸，異檸檬酸以及一個第三酸，順-烏頭酸間之異構作用。誠然，順-烏頭酸往往認為是檸檬酸轉變為異檸檬酸時之中間物。Speyer 及 Dickman 兩氏則謂一三羧酸之陽碳離子 (carbonium) 乃一真正的中間物，且此離子用烏頭酸在已完成的三種三羧酸達成相互間之平衡。就此酶對 Fe^{2+} 離子之需要，乃假定其任務為在形成陽碳離子時激動羥基原子團之離解。

注意由檸檬酸生成異檸檬酸 (反應 12-3) 時，檸檬酸之對稱分子被烏頭酸酶催化而成一不對稱的方式。即謂羥基原子團在異檸檬酸中乃局限在最初由醋酸衍生的一个碳原子而非乙醯基 - CoA 之甲基上。Ogston 氏新近在澳洲曾以其三點接觸說 (three-point attachment theory) 解釋此不對稱的作用，此說已在第 7-7 節中陳述。

12-4-3 異檸檬酸脫氫酶 (Isocitric Dehydrogenase) 異檸檬酸脫氫酶在一個二價陽離子 (Mg^{2+} 或 Mn^{2+}) 環境下，催化異檸檬酸之氧化性 β -脫羧基作用而菸醯胺核式酸為氧化劑而成 α -氧代戊二酸 (α -ketoglutaric acid) 及 CO_2 。應合理的認為該反應乃一起始氧化作用之結果，產生草琥珀酸 (oxalosuccinic acid)，然後在其 β -酮基酸上脫羧基而形成 CO_2 及 α -氧代戊二酸。

但有證據顯示如生成草琥珀酸，則堅固鍵結在該酶之表面上無論異檸檬酸之氧化性脫羧基作用或相反的反應，即 α -氧代戊二酸之還原性羧基化作用均不能釋出成為自由中間物。為此理由，異檸檬酸酶之名與蘋果酸酶亦屬類似 (第 12-7-1 項)。



大多數組織中含有兩種異檸檬酸脫氫酶。其中之一需要 NAD^+ 及 Mg^{2+} ，且僅在綫粒體中發現。另一種酶需要 NADP^+ 且在綫粒體及細胞質中均存在。“ NAD^+ - 特性酶”涉及三羧酸循環之功能，綫粒體的 NAD^+ 需要的酶與另一種相結合，循環的組成活性以後再陳述。

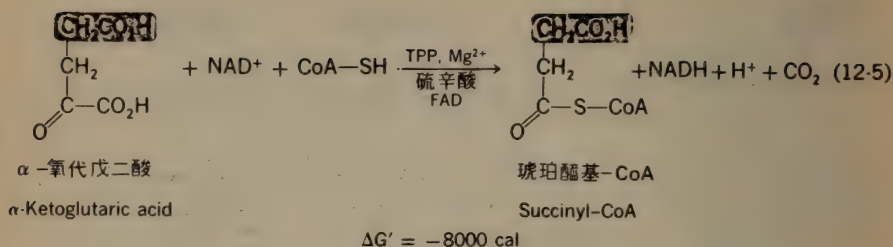
“ NAD^+ - 特性酶”在反效的效應子 (allosteric effectors) 精細控制下，異檸檬酸及 AMP 均為正性效應子。束合此等化合物在其效應子部位上增加酶之受質，異檸檬，以及 NAD^+ 在催化部位上的束合力。此酶對 ATP 及 NADH 亦具有效應子部位，其束合乃減少酶之受質的束縛。故 ATP 及 NADH 均為負性效應子，且此酶顯然受綫粒體之“能量充給” (energy charge) 所調節。

因異檸檬酸脫氫酶之活性降低，檸檬酸也和異檸檬酸一樣其濃度增大，此事實更加強調節的機程。蓋烏頭酸酶反應 (反應 12-3) 極利於檸檬酸之積聚，故其平衡常數導致上述情形。至於檸檬酸則已顯示在反效方式上刺激 1,6- 双磷酸果糖磷酸解酶及乙酰基 - CoA 羧酸酶之活性，此等酶均在此減少受質在三羧酸循環中之流量。

12-4-4 α-氧代戊二酸脫氫酶 (α-Ketoglutaric Acid De hydrogenase) 三羧酸循環之次一步驟涉及以 α- 氧代戊二酸之氧化性脫羧反應而形成琥珀醯基 - CoA (succinyl CoA)。此反應乃被 α- 氧代戊二酸氧化酶錯合體 (α-ketoglutaric acid oxidase complex) 催化，此酶需要 TPP, Mg^{2+} , NAD^+ , FAD, 硫辛酸，及輔酶 A 為輔因子。其機程與丙酮酸脫氫酶者類似 (第 12-3 節及 7-11-5 項)。全過程可寫做各個為在反應 12-1 中全然類似的反應之總和 (見下頁圖表)。

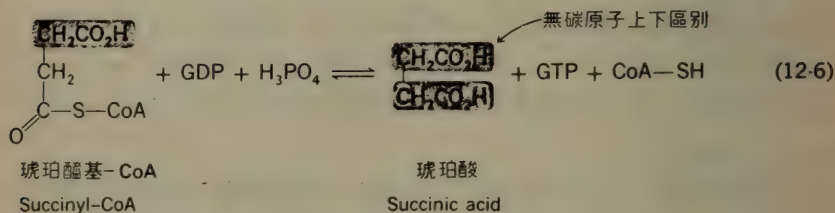
此反應因係脫羧反應之步驟，故全部不易為可逆的。在此反應中產生之琥珀醯基 - CoA 及 NADH 均抑制產生此等物質之酶。大腸菌酶錯合體之分子量为 2×10^6 。再度此轉基酶作為內生區的蛋白質 (core protein)。

此反應因係脫羧反應之步驟，故全部不易為可逆的。在此反應中產生之琥珀醯基 - CoA 及 NADH 均抑制產生此等物質之酶。大腸菌酶錯合體之分子量为 2×10^6 。再度此轉基酶作為內生區的蛋白質 (core protein)。



12-4-5 琥珀酸硫激酶 (Succinic Thiokinase) 在前反應中一硫酯之高能鍵的形成爲一氧化性脫羧基作用之結果。而此琥珀酸硫激酶 (succinic thiokinase) 則在消耗硫酯後催化形成一高能磷酸化合物之結構 (反應 12-6)。

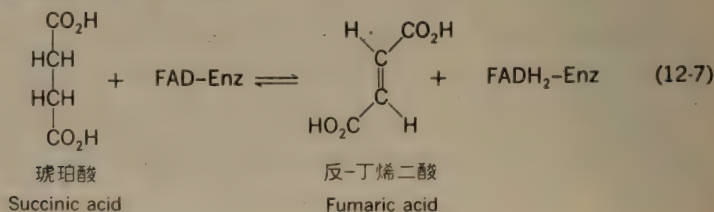
因反應 12-6 係涉及一新的高能磷酸鹽結構及使用一硫酯，在此反應中每



端之高能結構總數相等。故此反應易為可逆的，其 K_{eq} 為 3.7。在反應 12-6 中形成之 GTP 則可藉核貳二磷酸激酶之催化反應力與 ADP 化合而形成 ATP 及 GDP (反應 12-6)。因在 GTP 及 ATP 中焦磷酸之聯結有約與水解相同之 $\Delta G'$ ，此反應易於可逆，其 K_{eq} 約為 1。



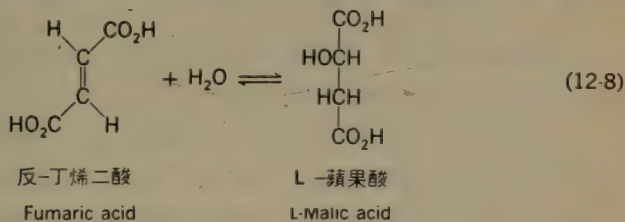
12-4-6 琥珀酸脫氫酶 (Succinic Dehydrogenase) 此酶催化琥珀酸移去兩個氫原子而成反-丁烯二酸：



此中間的電子接受體（氧化劑）為一黃素輔酶 FAD (flavin coenzyme, FAD)，該輔酶與其他之黃素酶不同，乃透過一共價鍵而鍵結在琥珀酸脫氫酶上。琥珀酸脫氫酶與內稜粒體膜結合且變得非常難溶。此種由牛心臟及酵母中製備的“被溶解物”每一莫耳酶（分子量為 200,000）中含 1 莫耳黃素。且有四個原子的非正鐵血紅素（nonheme）的鐵（又見第 14-2-3 及 8-4-4 項）因鐵不與一正鐵血紅素結合，像在細胞色素中那樣，故稱為“非正鐵血紅素”鐵，若干如此之蛋白質現在已經知曉，且知其明顯的在氧化還原反應中之功能。琥珀酸脫氫酶可被蘋果酸完全抑制，此事實對於三羧酸循環的詳細操作十分有用。

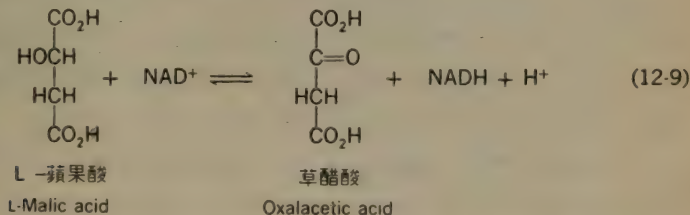
12-4-7 反丁烯二酸酶 (Fumarase) 此反應乃在反-丁烯二酸上添加一分子 H_2O 而成 L-蘋果酸（又稱羧基丁二酸 L-malic acid）。

此反應之平衡常數約為 4.5。反-丁烯二酸酶催化上述反應，已由豬心臟



結晶得出(分子量 200,000)為四個相同的多肽鏈之四聚物。其作用之動力及機程已被廣泛研究。

12-4-8 蘋果酸脫氫酶 (Malic dehydrogenase) 當此酶將蘋果酸氧化為草醋酸時三羧酸循環乃完成。此反應為在此循環中之第四次氧化-還原反應；對此酶之氧化劑為由豬心臟中提取之 NAD^+ 。



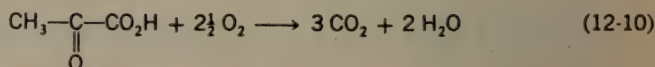
在 pH 7.0 時平衡常數為 1.3×10^{-5} ；故其平衡十分偏於左方。另方面乙醯基-CoA 與草醋酸在縮合反應（反應 12-2）中更進一步的反應，在檸檬酸

合成中為強烈的放能反應。乃趨向於蘋果酸轉變為草醋酸，若繼續移除草醋酸則平衡移動。

前述棧粒體的基質之蘋果酸脫氫酶與細胞膠體中其異構酶相反部分是不相同的。細胞膠體的蘋果酸脫氫酶在細胞膠體中由 NADH 產生 NADPH 負有重要的任務（見第 13-10 及 14-9 節）。

12-5 三羧酸循環之意義 (Features of the Tricarboxylic Acid Cycle)

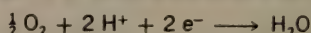
12-5-1 化學計量學 (Stoichiometry) 丙酮酸完全氧化成 CO_2 及 H_2O 之均衡式為：



因三羧酸循環反應（反應 12-1 直至 12-9）之由各步驟反應逐漸完成的，故詳加討論化學計量學是有助益的。

(一) 有五個氧化步驟，反應 12-1, 12-4, 12-5, 12-7 及 12-9，每個此種反應均有一對氫原子由受質中移出，而且不是傳遞至一菸醯胺輔酶便是至一黃素輔酶。將在第十四章中見及此等還原輔酶之氧化作用，在所有五種中，均經細胞色素電子輸送系統，結果還原五個氧原子或 $2\frac{1}{2}$ 氧分子。

(二) 用五對電子於還原 O_2 ，於是生成五莫耳水。



察見在反應 12-2, 12-8 內直接消耗兩莫耳的 H_2O 。欲說明在丙酮酸氧化反應（反應 12-10）中淨的僅產生 2 莫耳水之情形，有第三個分子的水必須先說明。即應注意在此循環之反應 12-6 中由 GDP 及 H_3PO_4 之產生 GTP，且注意欲寫出 12-10 之全反應式以對應由反應 12-1 直至 12-9 之總和。在反應 12-6 中產生的 GTP 必須要寫出均衡式——不是在反應 12-10 中所出現的——便要消耗一個第三莫耳 H_2O 來轉變 GTP 回至 GDP 及 H_3PO_4 。

(三) 最後，在三羧酸循環中產生的是 3 莫耳的 CO_2 。這些相當於在丙酮酸中之三個碳原子，但注意在反應 12-1 中只產生一個 CO_2 是丙酮酸直接引起的，其他兩莫耳之 CO_2 （反應 12-4 及 12-5），有其來源的草醋酸鹽的兩個羧酸基（注意陰影部分）。

所有此等三羧酸循環之諸反應均為可逆的，除 α -氧代戊二酸之氧化性脫羧作用為例外（反應 12-5）。早已指陳此反應完全與不可逆的丙酮酸一氧化性脫羧作用類似。故其意義是此循環不可能以相反的方向程序進行，雖然每個各別的階段均為可逆的。（例如由草醋酸變至琥珀酸，或由 α -氧代戊二酸變為檸檬酸）。同樣，乙醯基 - CoA 及 CO_2 亦不能用反應 12-1 之相反反應將轉變為丙酮酸。

12-5-2 抑制劑之效應 (The effect of Inhibitors) 已知有許多化合物可在三羧酸循環之特殊反應中做為抑制劑。其中之一種丙二酸 (malonic acid) 即為建立反應程序為循環性的工具。在 0.01M 丙二酸環境中，被琥珀酸脫氫酶催化之琥珀酸氧化反應受強烈的抑制（見第 7-8-2-1 目中競爭性抑制作用）。故在肌肉片中能氧化循環中之酸類，若已添加 0.01M 之丙二酸，則反應將僅進行至琥珀酸之形成時為止，而此酸將繼續積聚。

在丙酮酸上丙二酸之效應是亟須瞭解的，經已陳述，加添某些二羧酸或三羧酸於肌肉均漿中，則促進此等肌肉組織之呼吸作用。繼續顯示被肌肉均漿行氧化性的丙酮酸將因添加此循環中間物，二或三羧酸，於此物系中而被催化。此等酸類之氧化作用製得草醋酸，而此草醋酸再與由丙酮酸形成之乙醯基 - CoA 化合。但僅需要少量的（催化量的）循環中間物，因一俟存在便能在循環中經歷許多次，且每次消費一分子之乙醯基 - CoA。此即完全組織中循環之正常作用方式。

顯然，在丙二酸環境中，琥珀酸脫氫酶不能氧化琥珀酸為反 - 丁烯二酸；故琥珀酸將積聚起來。此等條件下，使用乙醯基 - CoA 僅能在供應能縮合之草醋酸時進行。故易見反 - 丁烯二酸及草醋酸均係僅為能供應使用乙醯基 - CoA 之化合物，因在循環中均為中間物，經琥珀酸脫氫酶後，能再轉變為草醋酸。尤有進者，此等物質必須添加化學計量的量與所用之乙醯基 - CoA 為當量之量。添加之三羧酸或 α -氧代戊二酸在丙二酸抑制系統中並無助益，因此等酸僅能經琥珀酸脫氫酶轉變為草醋酸。

三羧酸循環之酶類有一種抑制劑為氟化檸檬酸 (fluorocitrate) 可抑制烏頭酸酶。氟化檸檬酸為一有趣的抑制劑，因它能在生命細胞中被合成，而此點完成其抑制的作用。某些在南非洲的植物為毒物，因含有一氟醋酸 (monofluoro acetic acid, FCH_2COOH)。此化合物曾用做殺鼠劑與縮合酶成類似氟化檸檬酸之物質，因縮合酶能用做氟化乙醯基 - CoA 做為一受質

代替乙醯基 - CoA。氟化檸檬酸形成後却為一強力的烏頭酸酶抑制劑，且在組織中積聚大量檸檬酸而毒害動物。

12-5-3 三羧酸循環存在之證明 (Demonstration of the Tricarboxylic Acid Cycle) 若對一個未研究之組織器官中是否有此循環存在時這問題，則須確證如下各種證據：(a)該循環之中間體應被此等粒子氧化；(b)丙酮酸之氧化作用應被添加催化量之二或三羧酸而強烈的刺激；(c)琥珀酸之氧化應被丙二酸所抑制；及(d)丙酮酸之氧化在如此抑制系統中應需要化學計量的二羧酸。應當可以偵測出在線粒體中之酶類，且若該等物質不能仔細單離出來，則必須加添某些所需之輔因素（如 NAD^+ 或 Mg^{2+} ）。雖然所有此等觀察均可用綫粒體施行，唯須強調在動物組織上最初的觀察將用各種均漿為之。

12-5-4 Krebs 循環中間物之氧化作用 (Oxidation of Krebs Cycle Intermediates) 就此點論我們已加強致力於 Krebs 循環之分解代謝性質的研究。即其完成丙酮酸之完全氧化作用的能力，或更精確的說由丙酮酸（反應 12-1）衍生之乙醯基 - CoA 轉變至 CO_2 及 H_2O 。應注意乙醯基 - CoA 能由其他來源衍生，例如由脂肪酸之分裂（第十三章）或某些氨酸之分裂（第十七章）而成。

Krebs 循環顯然能做為對於此循環本身之七種三 - 及二 - 羧酸中間物氧化的一種機程。有一實例，即討論反應的連續性中，在分裂異白氨酸時產生的琥珀酸能完全氧化為 CO_2 及 H_2O 。起始時，琥珀酸經反應 12-7 直至 12-9 轉變為草醋酸。在此點上，草醋酸於是能與 1 莫耳之乙醯基 - CoA 縮合，但事實上，乃簡單地表示由循環加速醋酸之氧化，因由琥珀酸乃使草醋酸之濃度增大也。欲完成草醋酸之完全氧化，此化合物應轉變回去成為磷酸烯醇丙酮酸，像在糖原異生 (gluconeogenesis) (第 10-7-2 項) 中那樣。即草醋酸應被綫粒體的蘋果酸脫氫酶還原為蘋果酸 (第 12-4-8 項) 此蘋果酸擴散進入細胞膠體，且再被細胞膠體之蘋果酸脫氫酶轉變回草醋酸 (第 12-4-8 項)，此草醋酸於是再被 PEP-羧酸激酶轉變為磷酸烯醇丙酮酸 (第 10-7-2 項)。在此點上，磷酸烯醇丙酮酸能轉變為葡萄糖或，如前述被丙酮酸激酶轉變為丙酮酸 (第 10-4-10 項)。

後一種化合物於是再進入綫粒體，且被氧化為 CO_2 及 H_2O ，即依前所討論之循環反應。注意此程序在反應 10-14 中由草醋酸之四個碳原子中的一個

產生 CO_2 ，其餘三個則在丙酮酸本身之氧化過程中再轉變為 CO_2 。這種由 CO_2 - 固定的，糖酵解的 (10-7)，及 Krebs 循環酶類組合來氧化草醋酸顯然在細胞質及綫粒體間是靠配位的。此事已在第 10-7-2 項中討論。

12-6 三羧酸循環之調節 (Regulation of the Tricarboxylic Acid Cycle)

連續地供應被氧化的 NAD^+ 及使 Krebs 循環操作得以進行。電子傳遞程序的酶類 (第十四章) 完成此生命的活性及伴生氧化性的磷酸化作用程序。此處這些反應是被抑制的，一般言之，即 Krebs 循環不能行使功能。但其能行使的功能，其速率是被很微妙的控制着的。

在 Krebs 循環中為氧化作用提供乙酰基 - CoA 的丙酮酸脫氫酶在 NADH 或乙酰基 - CoA 之濃度已達到水準時便被抑制了。在 ATP 濃度增加時產生的環狀 AMP 也能添加控制作用，證明這哺乳動物丙酮酸脫氫酶能被環狀 AMP - 活化的蛋白質激酶來磷酸化。丙酮酸脫氫酶之不相同的一條肽鏈中有一個絲氨酸基之磷酸化作用使整個酶錯合體不活化了。當 ATP 及環狀 AMP 濃度減低時則發生復活化，結果經一磷酸解酶 (phosphatase) 使此酶行脫磷酸化作用。控制機程與糖原合成酶的機程類似其中酶之磷酸化形式 (磷酸丙酮酸脫氫酶) 乃是此酶之非活性形式。

檸檬酸合成酶在精巧的控制下，ATP 及 NADH 均可抑制此 Krebs 循環的起始反應。在異檸檬酸脫氫酶上 ATP 及 NADH 之抑制作用也已注意 (第 12-4-3 項)。故細胞之“能量充給”可影響之羧酸循環操作的速率。

12-7 Krebs 循環之組成代謝的性質 (The anabolic nature of the Krebs Cycle)

將在第十七章中見及 Krebs 循環乃細胞之某些關鍵性生物合成中間物之主要來源。有一顯著的實例是反應 12-4 中形成的 α -氧化戊二酸 (α -ketoglutarate)。 α -氧化戊二酸對於麩氨酸，麩醯胺，2,5-二氨基戊酸 (ornithine) (以及瓜氨酸及精氨酸之 5/6 的碳)，脯氨酸，以及羥基脯氨酸的生物合成提供碳架構。其他基本中間物為琥珀醯基 - CoA，發現用於在

血紅朊，肌紅朊，以及細胞色素中合成卟啉（porphyrin）。其他更特殊的實例可舉出的是：在柑橘屬的液泡（vacuoles）中積聚的檸檬酸或在某些景天（sedums）及蘋果高濃度中發現的異檸檬酸及蘋果酸均在此循環中有其起源。

欲正確說明 α -氧化戊二酸，或任何其他Krebs循環中間物在一組成代謝任務中的功能，必須引起一簡單的要求。 C_2 單位（乙醯基 - CoA）及 C_4 單位（草醋酸）結合且在Krebs循環中引起 α -氧化戊二酸（或其他中間物）必須提供相當於此氧化戊二酸之化學計量的量，以移除組成代謝的目的。故，若一細胞欲由 α -氧化戊二酸製出 $5.76\mu\text{moles}$ 之麩氨酸在所需之全部時間內必須提供 $5.76\mu\text{moles}$ 之乙醯基 - CoA及 $5.76\mu\text{moles}$ 之草醋酸來“均衡此簿記”。

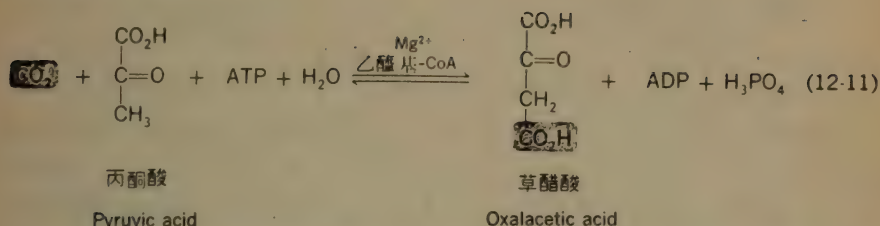
立刻考慮到 C_2 及 C_4 單位的“正常的”來源問題，這問題是早已討論過的。注意在本章中，乙醯基 - CoA可由丙酮酸衍生出來（反應12-1），故在碳水化合物中有其來源，因在糖酵解中碳水化合物產生丙酮酸。 C_2 單位也能由脂肪酸在 β -氧化作用過程中（第十三章）衍生。 C_4 單位之草醋酸可由一些來源衍生；已討論其由丙酮酸之產生乃透過丙酮酸羧酸酶之作用（反應10-13及12-11）。也可由PEP - 羧酸激酶（反應10-14及12-12）產生，雖然，生理上此反應呈現提取Krebs循環之碳原子而不是引入。一草醋酸之非常重要的來源是由Krebs循環本身的中間物而來。故立刻即將陳述的在乙醛酸循環（glyoxylic acid cycle）中產生的琥珀酸能經由反應12-7, 12-8以及12-9轉變為 C_4 而提供草醋酸。最後，草醋酸能由天門冬酸之轉胺基作用而產生之（第17-4-1項）。

12-7-1 組成補充的反應（Anaplerotic reactions） 前節中之Krebs循環的組成代謝性質已引起一問題即當某些中間物為組成代謝目的而用盡時該中間物之濃度如何能再補給。H.L Kornberg氏曾建議對於此等“補充”或“充滿”反應稱為“組成補充的反應”。其中有些早已討論過了，而另外一些尚未陳述的便在此處討論之。

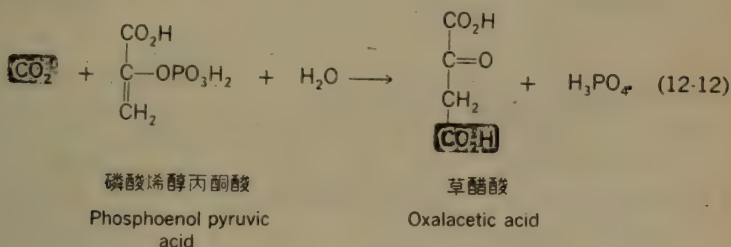
(一) 丙酮酸羧基酶（pyruvic carboxylase）：在動物組織中單純而最重要的組成補充的反應是藉丙酮酸羧基酶，一種綫粒體的酶，的一種催化反應。

此酶之性質已在第10-7-2項中詳述。糖酵解反應及三羧酸循環中的中間物

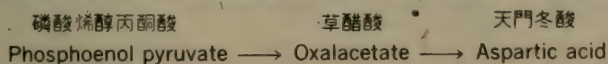
由此反應催化聯結之。



(二) 磷酸烯醇丙酮酸羧基酶 (phosphoenol pyruvic acid carboxylase) (PEP-羧基酶) 催化反應 12-12 :

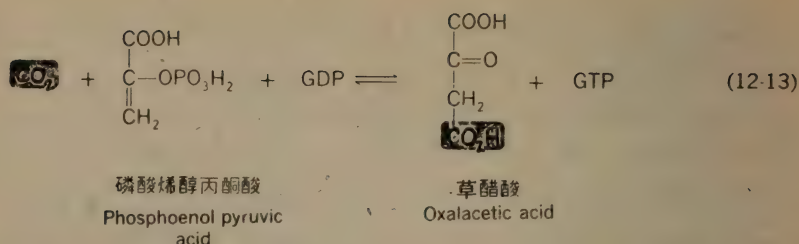


此酶需要 Mg^{2+} 使之活化；此反應是不可逆的。磷酸烯醇丙酮酸羧基酶在高等植物，酵母，以及細菌中存在（假單胞菌 *pseudo monad* 除外），但動物中則否。這或者有些像丙酮酸羧基酶一樣的功能，即為保證使 Krebs 循環有一適當的草醋酸供應才如此的。若干品種之酶被 1,6 - 二磷酸果糖活化，乃結合像 Krebs 循環之功能可以適當的氧化由葡萄糖已轉變的丙酮酸。磷酸烯醇丙酮酸羧基酶被天門冬酸所抑制；此效應現在已經洞曉草醋酸乃天門冬酸之直接先質時（經轉氨基作用）便可瞭解。故，此生物合成之順序為：

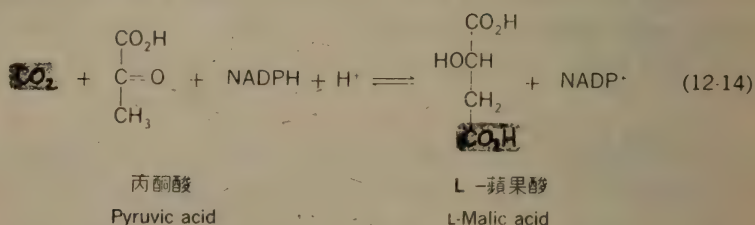


由 PEP 合成天門冬酸鹽此順序是一簡單的途徑，且天門冬酸能在此順序中藉抑制第一步驟而控制自身的產生。

(三) 磷酸烯醇丙酮酸羧基激酶（在第 10-7-2 項中敘述）在學理上能催化由丙酮酸而來之草醋酸的再補充作用。但對於草醋酸此酶之親和性非常大（ $K_m = 2 \times 10^{-6}$ ），而對於 CO_2 則甚低。故此酶利於磷酸烯醇丙酮酸之形成：



四 蘋果酸酶催化由丙酮酸及 CO_2 形成 L-蘋果酸之可逆形成，對此反應之 K_{eq} 在 pH 7. 為 1.6。



蘋果酸酶在植物中發現，在許多動物組織中且在若干細菌中生長蘋果酸〔即，在如此組織中為一適應酶（adaptive enzyme）〕。相信此酶是重要的，因對於生物合成的目標能產生所需之 NADPH。此物質與戊糖磷酸途徑之兩種脫氫酶（第十一章）及“ NADP^+ - 特殊異檸檬酸脫氫酶”（第 12-4-3 項）在一起提供一途徑。不是由糖酵解便是由 Krebs 循環中間物產生被還原的酶。在某些植物中蘋果酸酶在光合成中行使重要任務。

12-7-2 固定 CO_2 - 反應（ CO_2 -Fixation Reactions） 反應 12-11 直至 12-14 均為固定 CO_2 反應之實例。最初觀察乃 Wood 及 Werkman 兩氏在 1936 年研究此等反應而得。他們察見丙酸細菌（propionic acid bacteria）將甘油酸酵成丙酸及琥珀酸時發現在生成物中有較添加之甘油更多的碳存在。再者二氧化碳尤為供應額外的碳原子，即被固定的碳原子之來源。現在，生理學的固定 CO_2 的意義已延伸至丙酮酸細菌之代謝作用以外，不僅包括上述之組成補充的反應，且亦包括諸如酶類，乙醯基 - CoA 羧基酶（第 8-6-3 項），丁醯基 - CoA 羧基酶（第 13-8 節），以及 1,5-二磷酸核酮糖羧基酶（ribulose-1,5-diphosphate carboxylase）（第 15-10-2-1 目）在內。

12-8 乙醛酸循環 (The glyoxylic acid cycle)

三羧酸循環之兩種主要任務現已陳述：乙醯基 - CoA (及能轉變為乙醯基-CoA 之化合物) 之完全氧化作用及多重的組成代謝活性——即穀氨酸，琥珀醯基 - CoA，天門冬酸之合成。因循環之反應 (反應 12-2 至 12-9) 僅能降解醋酸鹽，而剩餘的基本問題是若干有機體組織 (許多細菌、藻類，及若干高等植物在其生命循環之某階段中) 能如何利用醋酸，做為細胞之所有碳水化合物之碳來源。而另一方式，因醋酸僅能經 Krebs 循環被氧化為 CO_2 及 H_2O 如何醋酸能在若干組織中引起碳水化合物也和氨酸一樣是由三羧酸循環衍生的呢？

這種挑戰性的問題是由 H. L. Kornberg 氏最成功地追求探討，與其他人士揭示在此等組織中醋酸是經歷一種組成代謝程序轉變為碳水化合物的，這種程序稱為乙醛酸循環 (圖 12-1)。事實上，乙醛酸循環經過旁通之反應

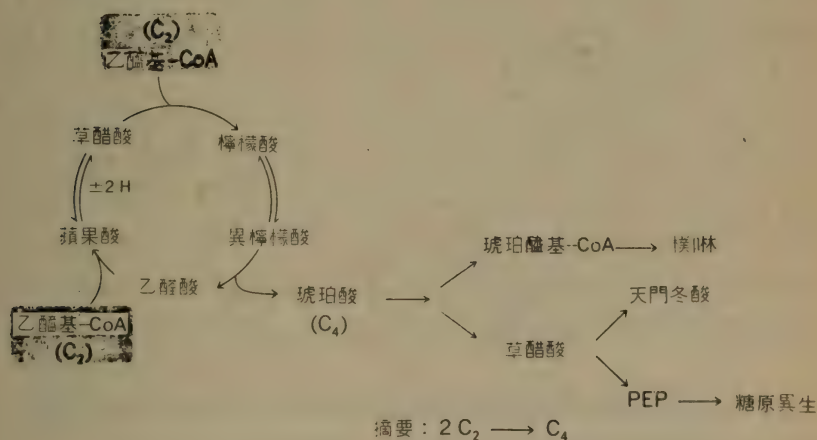
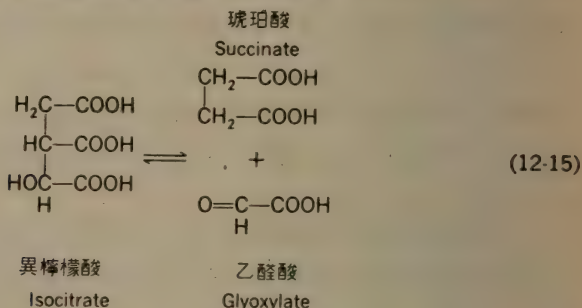


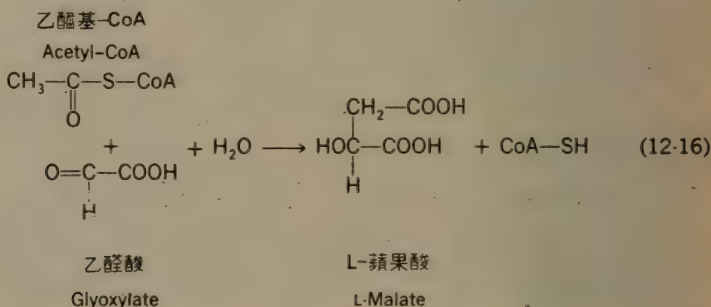
圖 12-1 乙醛酸循環，示明-莫耳之琥珀酸由二莫耳之醋酸 (為乙醯基-CoA) 形成。

(bypasses reactions) 由 Krebs 循環之反應 12-4 直至 12-8, 在此消去兩個產生 CO_2 的反應 (反應 12-4 及 12-5)。旁通反應由兩個反應組成: (1) 異檸檬酸分裂為琥珀酸及乙醛酸鹽, 及 (2) 二羧酸與其他乙醯基 - CoA 反應成蘋果酸。

先討論前二反應。是異檸檬酸被氧化, 被異檸檬酸酶 (異檸檬酸加成消去酶 isocitrate lyase) 分裂形成琥珀酸及乙醛酸:



形成之乙醛酸於是與 1 莫耳之乙醯基 - CoA 縮合成 L-蘋果酸與早先討論的檸檬酸合成酶 (反應 12-2) 類似。涉及之酶稱為蘋果酸合成酶 (malate synthase):



而此等二反應旁通 Krebs 循環的脫羧基作用步驟, 在其本身並不組成一循環直至與被蘋果酸脫氫酶 (反應 12-9), 檸檬酸合成酶 (12-2), 以及烏頭酸酶 (12-3) 之催化反應一齊寫出為止, 此五種酶在一起乃組成乙醛酸循環而且完成將 2 莫耳醋酸 (為乙醯基 - CoA) 轉變為琥珀酸 (圖 12-1)。

現在乙醛酸循環之完全意義便是實現琥珀酸之為此循環之一種生成物, 能承受以上所述之反應。例如琥珀酸能轉變為琥珀醯基 - CoA (反應 12-6)

及做為樸啉 (prophyrins) 之一種先質。琥珀酸能經由反應 12-7 直至 12-9 被氧化為草醋酸, 且能對於天門冬酸之合成有所利用 (第 17-4-1 項), 及其他化合物 (例如嘧啶類) 之由天門冬酸所衍生, 草醋酸能轉變為 PEP 且能受糖原異生 (gluconeogenesis) 之反應。最後, 草醋酸能與乙醯基 - CoA 縮合 (反應 12-2) 且對於在一組成方式中行使 Krebs 循環做為早期之特殊需要 (第 12-7 節)。

較高級植物之組織含有乙醛酸循環功能的, 便具有細胞器 (乙醛酸體, glyoxysomes), 此細胞器即具有操作此循環所需之五種酶類 (第 9-10 節)。很有興趣注意到乙醛酸體在高脂質種子的子葉中呈現則縮短發芽期, 且此脂質用做碳水化合物合成之主要碳源時亦呈現之。故高脂質種子 (例如花生莖麻子) 能將脂質轉變為碳水化合物, 動物及大多數植物都不能實行此合成的反應, 因均缺乏乙醛酸循環也。

12-9 綫粒體的分區作用 (Mitochondrial compartmentation)

在第九章中已讀及三羧酸循環之酶類其部位不是在內部膜中便是在內部基質中。許多輔酶 (NAD⁺, FAD, TPP, 硫辛酸, CoA-SH) 及輔因子 (Mg²⁺, ADP, GDP) 與此循環結合也均局限在由細胞質內此等化合物所在處而來之膜內或基質內。丙酮酸氧化作用僅在 α -酮基酸穿過以後才進行的, 此物自由穿過內膜進入基質, 在基質處所需酶類即局限於此。

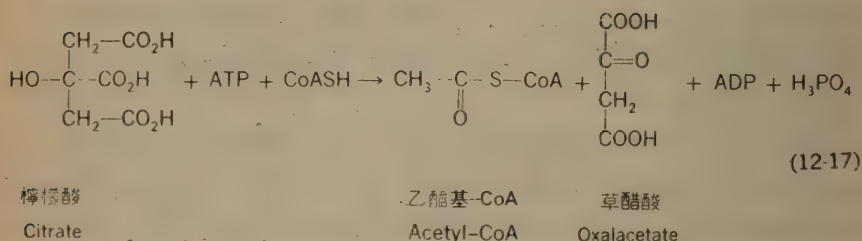
進入 Krebs 循環之酸類到綫粒體中是由交換機程完成的。故對於蘋果酸及琥珀酸之進入, 必須有相當量之無機磷酸離開此綫粒體。對於檸檬酸及異檸檬酸亦行使相同之交換機程。適成對比, 反丁烯二酸及草醋酸不能由任一方穿過綫粒體膜。

α -酮基戊二酸能進入或穿出細胞器而運動, 但必須有一相當量的蘋果酸由相反方向經過 (見第 14-10 節, 更深入的討論)。

對於脂肪酸合成醋酸單位之重要來源是乙醯基 - CoA 由丙酮酸之氧化性脫羧基作用在綫粒體內生成的。但欲參與脂肪酸合成乙醯基 - CoA 必須傳遞至細胞質中在該處乃發生反應。乙醯基 - CoA 之不能穿過內部膜將在十三章中參證, 乃是在傳遞脂肪酸穿過此障壁之內毒輸的任務, 而乙醯基單位

能傳遞出綫粒體是以乙醯基 - 肉毒鹼形式，檸檬酸也能行此相同之任務。

反應 12-2 產生之檸檬酸能脫離綫粒體，且在細胞質中，被有關 ATP 的檸檬酸裂解酶分裂成乙醯基 - CoA：



在此反應中生成之草醋酸中碳原子能依其方式回轉至綫粒體，這是在細胞質中發生的 NAD⁺ 蘋果酸脫氫酶還原為蘋果酸以後的事。在綫粒體基質中蘋果酸將被氧化為草醋酸，此物能獲取另一莫耳之乙醯基 - CoA 而形成檸檬酸，且如此重複此程序（第 14-10 節）。

參 考 文 獻

1. T.W. Goodwin, ed., *The Metabolic Roles of Citrate*. London: Academic Press, 1968.

此書有八個主題涵蓋三羧酸循環之大量風貌。各主題由尊崇 Sir Hans Krebs 的生物化學學會討論會所發表，代謝循環常常以其姓名冠稱之。

2. J.M. Lowenstein, "The Tricarboxylic Acid Cycle," in *Metabolic Pathways*, D.M. Greenberg, ed. 3rd ed., vol. 1. New York: Academic Press, 1967.

一本三羧酸循環之評論包括立體化學的景象。

3. H.L. Kornberg, "Anaplerotic Sequences and Their Role in Metabolism," in *Essays in Biochemistry*. vol. 2. London: Academic Press, 1966.

此類問題之權威之作。

4. H. Beevers, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 168, 313 (1969).

乙醛酸循環存在於某些植物組織中。

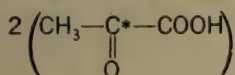
5. H.G. Wood and M. F. Utter, "The Role of CO₂ Fixation in Metabolism," in *Essays in Biochemistry*, vol. 1, London: Academic Press, 1965.

對CO₂固定及在補充三羧酸循環所負之任務的主題，是一本明晰的著作。

6. E.A. Newsholme and C. Start, *Regulation in Metabolism*. London Wiley, (1973).

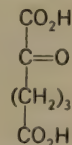
習 題

1. 若僅討論脂肪酸降解的順序，Krebs循環及糖酵解，顯然一淨的脂肪酸轉變為碳水化合物（葡萄糖）不能發生。故，當一鼠飼以放射性醋酸（C¹⁴H₃COOH）說明何以糖原及血葡萄糖變為放射性的。示明已糖單位之何種碳原子是標識的。
2. 一動物注射用 ¹⁴C 標識的放射性丙酮酸



幾分鐘後動物呼出之二氧化碳集取之發現有高放射性。用方程式寫出呼出之二氧化碳中 ¹⁴C 之呈現有關之酶 - 催化反應的系列。

3. 設想一適當的或可能的酶催化反應順序，由此 α-酮基己二酸（α-ketoadipic acid）（一個 α-酮基，六碳二羧基酸）可能由乙醯基 - CoA 及 α-酮基麩氨酸合成之。用結構及示明所有需要的輔因子。



α-酮基己二酸

α-Ketoadipic acid

4. 大腸菌由 α-酮基麩氨酸得到它的麩氨酸（及其他五碳之氨酸），前者則轉而不是由丙酮酸便是由醋酸能合成之，蓋為其惟一之碳源。寫出代謝

的途徑，由此途徑微生物能由每種兩碳源而完成淨的 α -酮基羧酸。

5. 乙醛酸之一反應為與 Krebs 循環的縮合酶（檸檬酸合成酶）所催化之反應形式上是類似的。用有機酸之結構及因子之縮寫（即 NAD^+ ）寫出乙醛酸循環之反應。

第十三章

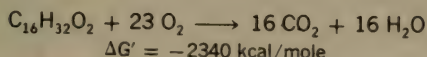
脂質之代謝作用

Lipid Metabolism

目標 本章之第一部分要詳為討論在體內之脂質傳遞及代謝作用，及第二部分經各種組織利用脂質以降解，生物合成，以及酮體之形成各項情形討論之。依此途徑希望涵蓋脂質代謝的主要景象較依傳統的單獨代謝系統的介紹方式更為合乎邏輯些。

13-1 引言 (Introduction)

在動植物兩方面，脂質均大量儲存，為中性的，高度不溶解的三醯基甘油類；均能迅速移動且降解以應細胞對能量的要求。一種典型的脂肪酸在完全燃燒中有一大的負自由能變化：



此負的變化乃歸因於高度被還原的碳水化合物原子團其氧化作用與脂肪酸羧基有關所致。所有常用的食品只是長鏈脂肪酸具有此種重要化學特性而已。故脂質具有所有食物定量的最佳卡路里值，即脂質每克有 9.3 kcal，而碳水化合物及蛋白質成對比的僅 4.1 kcal/gm。

脂質也具有一種重要的功能即是精巧的內組織器官之絕緣體 (insulators) 就是此等內組織器官神經組織 (nerve tissue)，血漿膜 (plasma membrane)，以及次細胞質的粒子諸如綫粒體，內胞漿網 (endoplasmic reticulum)，以及具有複合脂質為基本成份之核類。此外，在綫粒體及在葉綠體中發現的錯綜複雜的結構中，經由有關生命的電子傳遞系統，光合成的部位，均在其基本結構中含有脂質之衍生物。

已經指陳，在動物細胞中有效能量的主要儲存形式是脂質分子。當熱量

之汲取超過利用之量，過剩食物乃以不轉變的脂肪形式儲存於體內。軀體內不能像這樣的大量儲存任何其他形式的物質。例如，碳水化合物則轉變為糖原（glycogen），但軀體之儲存此種多糖類的本領，做為能量的有效來源，是有嚴格限制的。在正常的肝臟中平均糖原量為總重量之5至6%，且在骨骼肌（keletal muscle）中糖原平均含量僅0.4~0.6%而已。血葡萄糖能集積之量為全部血液的每100ml中含60~100mg濃度的糖原。只在病理情況下此等濃度有猛烈的變化。故正常動物應十分仔細的調節，或用激素的或用代謝的調節，碳水化合物以及此類化合物之濃度在各組織中，只能有限的做為能量的儲存形式。

蛋白質，第三種重要的食物分類，在生物功能中不同於碳水化合物及脂肪；對於“新”蛋白質合成做為廿幾種氨基酸的來源，且對於嘌呤、嘧啶，以及其他含氮化合物之合成做為碳骨幹的基本來源。再者，在成年的組織器官中，活潑的成長已經停止，氮之放出多少與氮之汲取互相配合，而且器官顯示未有由飲食中儲存過多的蛋白質之趨勢。

13-2 飲食的脂質之變遷 (The fate of Dietary Lipid)

圖 13-1 中以圖解方式表示軀體內脂質之流動情形，三種重要部分是肝臟、血液，以及脂肪組織（adipose tissue）。肝臟及脂肪組織均為代謝活性的主要部位，而血液做為一傳遞輸送系統，其他部分包括心的及骨骼肌，均為重要的脂肪酸及酮體的使用者。

13-3 腺腔 (Lumen)

在小腸（small intestine）之腺腔中，在共軛膽汁酸（conjugated bile acid）及胰脂酶（pancreatic lipase）環境下，三酰基-甘油降解為自由脂肪酸（free fatty acid），FFA，及單酰基甘油（monoacyl glycerol），MG。共軛膽汁酸均為去垢劑（即清潔劑 detergent）乃一溶解的脂質（類甾醇）及一極性〔牛磺酸（taurine）及甘氨酸（glycine）〕部分所組成。膽汁酸、脂肪酸，以及單酰基甘油形成微束（micelles）。在微束中，非極性的部分集中，局限於一處，而極性部分則在表面。微束對於

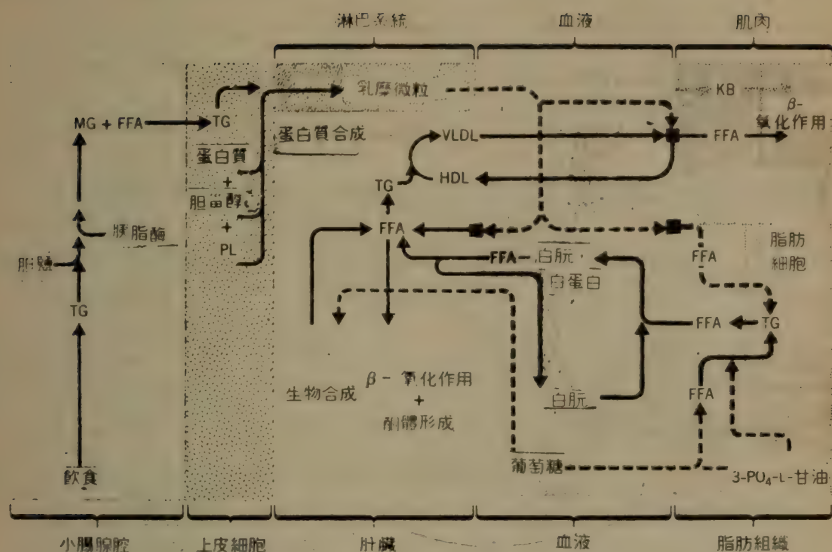


圖 13-1 在動物中使用脂質之分區的圖解說明。TG = 三酰基甘油 (Triacylglycerol) ; MG = 單酰基甘油 (Monoacylglycerol) ; FFA = 自由脂肪酸 (free fatty acids), chol = 膽甾醇 (Cholesterol) ; PL = 磷脂 (Phospholipids; KB = 酮體 (Ketone body) ; VLDL = 非常輕密度的脂蛋白質 (Very light density lipoprotein) ; ■ 脂蛋白質脂酶 (lipoprotein lipase) ; HDL, 高密度的脂蛋白質 (high density lipoprotein)。

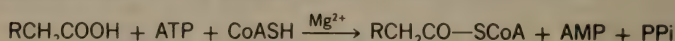
油溶性的維生素及膽甾醇也是吸收的媒介物。但，膽汁酸不能經由淋巴的途徑吸收，却可穿過門脈血液 (portal blood) 至肝臟，且經胆囊 (gall bladder) 再循環回流至腺腔。

13-4 上皮細胞及乳糜微粒 (Epithelial Cells and Chylomicrons)

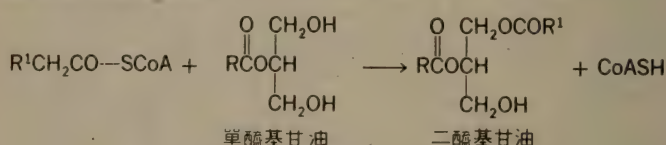
自由脂肪酸，單酰基甘油，以及留存的三酰基甘油均被吸收，由微束進

入小腸之上皮細胞中，在該處以細胞質內胞網狀構造中的酶類行如下之反應：

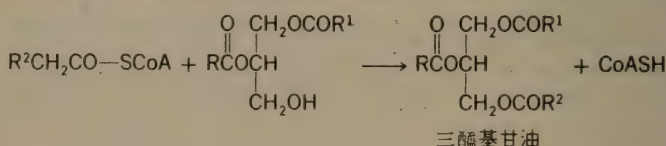
(a) 醯基 CoA 有關 ATP 之合成酶 (Acyl CoA Synthetase)



(b) 單醯基甘油醯基轉移酶 (Monoacyl glycerol acyl transferase)

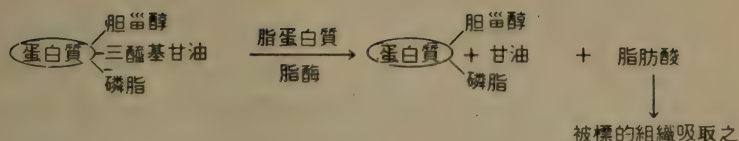


(c) 二醯基甘油醯基轉移酶 (Diacylglycerol acyl transferase)



新合成的三醯基甘油，飲食中之膽甾醇，以及新合成的磷脂也和特殊的新合成蛋白質一樣均在上皮細胞的內胞網狀結構中結合，且均以乳糜微粒分泌至乳糜管 (lacteals)。此等粒子均安定的，直徑約為 200 nm 含有蛋白質 0.2~0.5%，磷脂 6~10%，膽甾醇 + 膽甾醇酯類 2~3%，以及三醯基甘油約 80~90%。此等粒子穿過小腸乳糜管進入淋巴系統，然後最終進入胸導管 (thoracic duct) 在左鎖骨下靜脈 (left subclavian vein) 輸入血液系統成一種乳狀懸浮體。由血液移動乳糜微粒是非常迅速的，此等粒子之半生命約為 10 分鐘。

在同等熱值情況 (isocaloric conditions) 下，大多數乳糜微粒均輸往脂肪組織中儲存之。但在飢餓情況下，當脂肪儲存對動物已十分不利時，乳糜微粒乃應能量之需要而主要被紅骨骼肌、心肌，以及肝臟所使用。因乳糜微粒在標的組織能使用它們之前必須首先有其三醯基甘油成分分解為自由脂肪酸，有一種重要的調節因子，脂酰脂酶 (lipoprotein lipase)，便直接參與此降解程序中：



在同等熱值情況下，局限在標的組織毛細管基壁上的此酶在脂肪組織中有高度活性。故由乳糜微粒衍生的自由脂肪酸將輸入脂肪組織中儲存。明顯的對比，在飢餓情況下，顯然在脂肪組織之血管系統中活性降低，但在肌肉、肝臟，以及心肌中均需要其能量的流通。今，任何在血液中之乳糜微粒並不為儲存脂肪組織而使用，但勿寧謂轉向重要標的組織，諸如為能量目標的肌肉。

13-5 脂肪組織 (Adipose Tissue)

自由脂肪酸進入脂肪組織之脂肪細胞中是經由鄰近毛細管壁中之“脂肪脂酶”(lipoprotein lipase)的作用，此等酸均迅即轉變為三鹵基甘油如圖13-2所示。成熟的脂肪細胞是由一薄層細胞質包裹在一大滴三鹵基甘油上所組成，此三鹵基甘油約占細胞總體積的99%。一個完整的真核的細胞器已在脂肪細胞之細胞質中發現。此等在哺乳類及鳥類中之脂肪細胞，對於整個動物的能量儲存處所行使重要任務。在人類，主要脂肪儲存處即是皮下組織(subcutaneous tissue)，肌肉以及腸系膜組織(mesenteric tissue)。適成對比，例如若干魚類、鱈魚則用其肝臟儲存脂類。充分的脂類儲存為在脂肪細胞中之三鹵基甘油，可在四十天的絕食中維持生命。

脂肪儲存並非穩定的，即脂質是繼續活動及儲存的。正常的羣體脂質量保持一相當長時間的恒定是藉一種尚未知曉的機程以食慾調節之。在動物飢餓時，長時間操勞，或劇烈運動後，由血脈而來的腎上腺素(adrenalin)與脂肪細胞表面內的一種特殊受納體(specific receptor)相束合而引發一反應，如圖13-3中所示。一種對激素敏感的脂酶被活化，迅即轉變三鹵基甘油為二鹵基甘油及FFA。FFA終於輸入血液中，在該處與血清白朊(serum albumin)結合成可溶解的，安定的FFA-白朊錯合物。血清白朊約造成50%的總血漿蛋白質。分子量約為69,000，此蛋白質在血液與滲透調節上

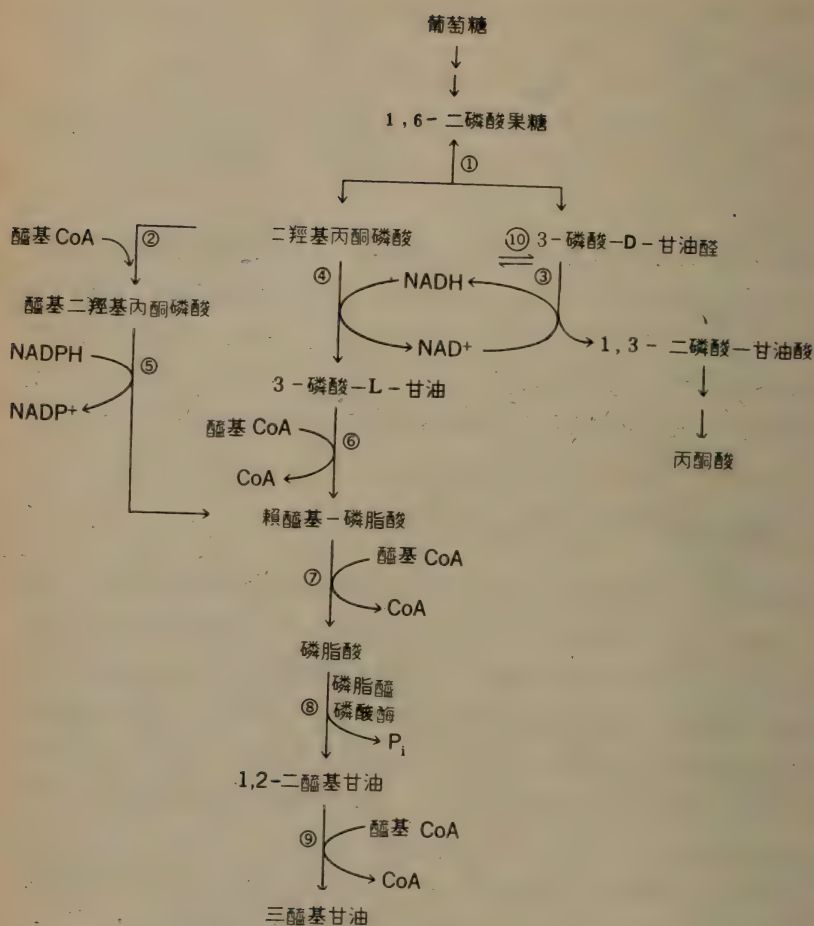


圖 13-2 有關三酯基甘油合成中之酶類。

- | | |
|----------------|--------------|
| ① 醃縮酶 | ⑥ 磷酸甘油轉醃基酶 |
| ② 二羥基丙酮磷酸轉醃基酶 | ⑦ 賴酯基-磷脂轉醃基酶 |
| ③ 三糖磷酸脫氫酶 | ⑧ 磷脂酸磷酸酶 |
| ④ 3-磷酸甘油脫氫酶 | ⑨ 二酯基甘油轉醃基酶 |
| ⑤ 醃基脫羥基丙酮磷酸還原酶 | ⑩ 三糖磷酸異構酶 |

有主要關係。因其高溶解性以及對脂肪酸為唯一的束合部位（每個白朊分子有7-8處部位），對於脂肪酸又行使另外一種非常重要的傳遞任務否則便會高度不溶解，及有毒性（會溶解紅細胞）。一俟束合在血清白朊上，如此FFA白朊錯合體便是高度溶解的，非毒性的，且迅速地傳遞至肝臟俾進一步的使用。雖然只約有2%的總血漿脂類與血清白朊結合為FFA白朊錯合體，但在血液中FFA之轉變率是非常高的。一俟FFA白朊錯合體進入肝臟中，一迅速傳遞的FFA進入肝細胞同時發生無白朊之脂肪酸進入血液中。應注意FFA之實際濃度在血漿中是非常低的。

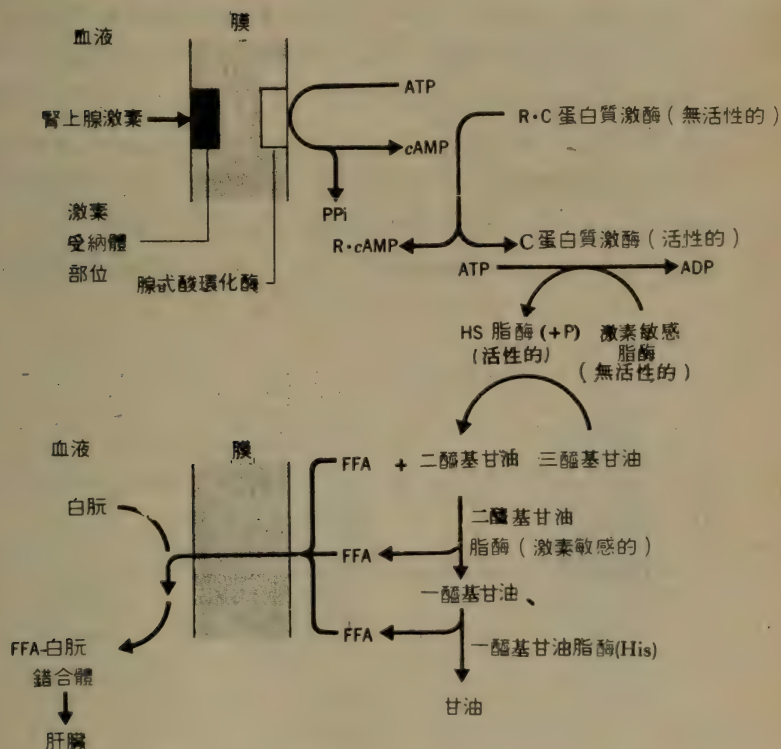


圖 13-3 脂肪組織之脂肪細胞中之事件。

13-6 肝 臟 (Liver)

在此器官中能有若干代謝途徑存在，今將分別詳述之。

13-6-1 β - 氧化作用 (β -Oxidation) 與 β - 氧化系統有關之所有酶類均局限於內膜及肝臟之基質以及其他組織綫粒體中。因內膜也是電子傳遞及氧化性磷酸化系統的部位, 這種安排在長鏈脂肪酸中勢能 (potential energy) 儲存的守恒性及有效釋出方面均有其基本的重要性。脂肪酸裂解所產生之乙醯基 - CoA, 可能廣續地經局限於基質中且溶解的三羧酸循環酶類氧化為 CO_2 及 H_2O 。肝臟及其他組織綫粒體的不尋常性質是不能氧化脂肪酸或脂肪醯基 - CoA 的, 除非加入催化之量的 (-) - 肉毒鹼 (3 - 羥基 - 4 - 三甲基丁酸銨) [(-) - carnitine (3 - hydroxy-4 - trimethyl-ammonium butyrate)]。顯然, 自由脂肪酸或脂肪醯基 - CoA 不能穿過肝臟內膜, 及其組織綫粒體, 而醯基肉毒鹼容易穿過膜, 而且然後便轉變為在基質中之醯基 - CoA。圖 13-4 繪出醯基 - CoA 之由綫粒體外側至 β - 氧化系統之內部位的易位概略圖解。

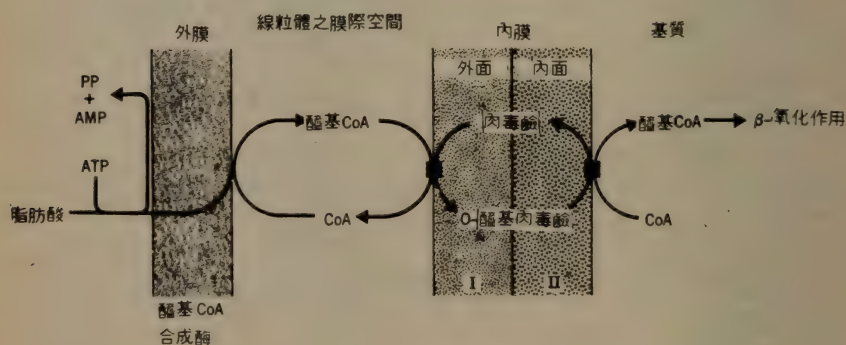


圖 13-4 由細胞膠質至線粒體中 β -氧化部位脂肪酸之傳遞圖解，肉毒鹼：酰基-CoA 轉基酶 I (外面) 及肉毒鹼：酰基-CoA 轉基酶 II (內面)，同一反應中催化用兩種不同之酶。

關鍵酶即肉毒鹼醯基 - CoA 轉基酶 (carnitine acyl - CoA transferase)。

全部 β -氧化圖解如圖 13-5 所示。注意全部降解乙醯基 - CoA 活化 - 脂肪酸只須要一分子 ATP 而無視在其碳氫 (煙) 鏈中之碳數有多少。換言之, 無論希望氧化一個 C_4 酸或一個 C_{16} 酸, 為活化作用只需要一當量之 ATP。這使脂肪酸氧化作用中造成很大的經濟及效率。

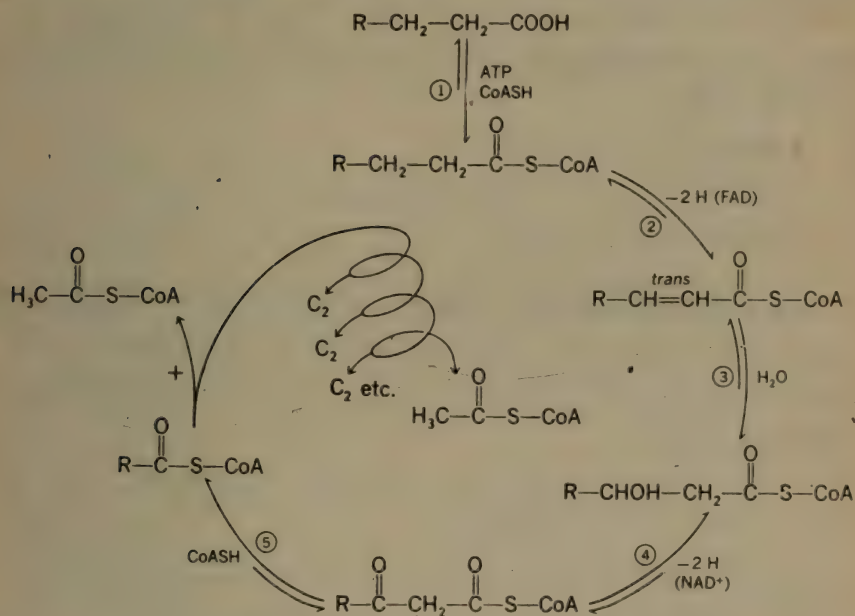
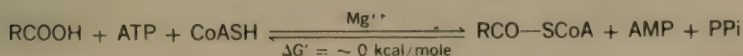


圖 13-5 β -氧化反應螺旋型圖解：

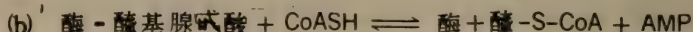
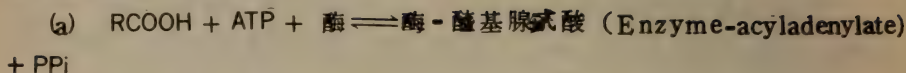
- (1) 脂肪酸 - CoA 有關 ATP 之合成酶 (Fatty acid - CoA Synthetase)
- (2) 脂肪醯基 - CoA 脫氫酶 (Fatty acyl - CoA dehydrogenase)
- (3) 烯醇基 - CoA 水化酶 (enoyl - CoA hydratase)
- (4) β -羥基醯基 - CoA 脫氫酶 (β -hydroxy acyl - CoA dehydrogenase)
- (5) β -酮基醯基 - CoA 硫醇化酶 (β -Ketoacyl - CoA thiolase)

在圖 13-5 中所示反應有四種酶催化, 而第五種酶, 醯基 - CoA 合成酶在起初活化步驟中, 此等酶類均分別簡述如下：

A. 以醯基 CoA 合成酶形成醯基 - S - CoA: 全部反應為：

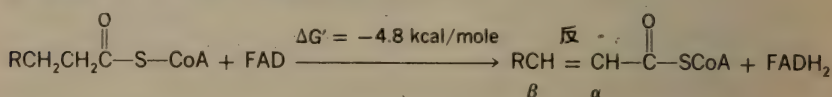


此反應實際上分兩步進行：

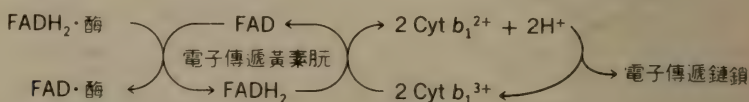


在細胞中有三種不同的合成酶：一個活化的醋酸及丙酸或為相當的硫酯，另一活化中度鏈脂肪酸由 C_4 至 C_{11} ，以及第三個活化脂肪酸由 C_{10} 至 C_{20} 。前兩個已說明在綫粒體之外膜內存在及第三個合成酶則與細胞質內網組織膜（微粒體）有關。

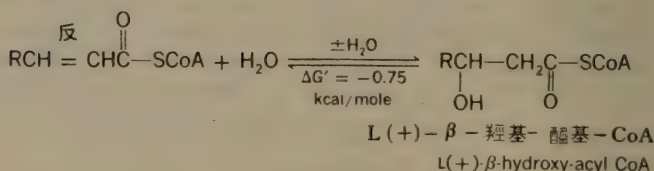
B. 酰基 CoA 之 α, β -脫氫作用



在綫粒體之基質中發現有三種酰基 CoA 脫氫酶。均具 FAD 為輔基原子團（prosthetic group）。第一種具一特殊範圍由 C_4 至 C_6 酰基 CoA，第二種由 C_6 至 C_{14} ，以及第三種由 C_6 至 C_{18} 。FADH₂ 並非直接為氧所氧化，却經過如下之途徑：

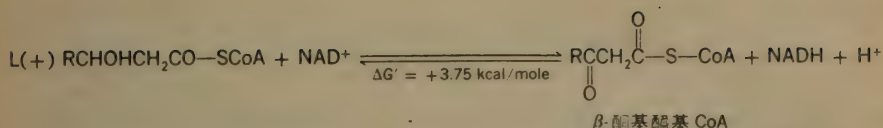


C. α, β -非飽和酰基-CoA 之水合作用



此酶，烯醇 CoA 水化酶，催化此反應；具廣泛的特性。應注意反- α, β 酰基 CoA 之水合結果得 L(+)- β -羥基酰基 CoA。也有水合 α, β -順不飽和酰基 CoA，但在此場合生成者為 D(-)- β 羥基酰基 CoA。

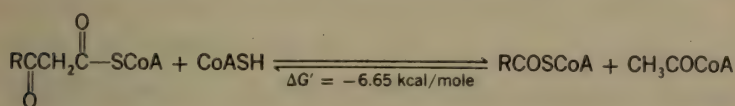
D. β -羥基酰基 CoA 氧化作用



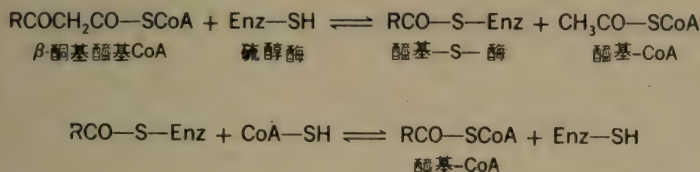
一廣泛特性的 L- β 羥基醯基 CoA 脫氫酶催化反應，專門對 L-形式的有效。

E. 硫醇解作用 (thiolysis)

硫醇化酶 (thiolase) 行 β -酮基醯基 CoA 之硫醇裂解。有廣泛的特性。



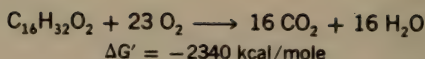
此種醇蛋白質具有一個活性的 SH 原子團在一半脫氨酸殘基 (cysteiny residue)，而涉及如下之反應：



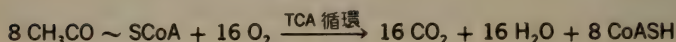
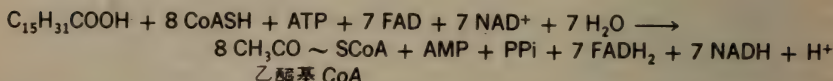
讀者應注意對於縮短為兩碳原子的一醯基 CoA，乙醯基 CoA (acetyl-CoA)，淨 $\Delta G'$ 為 -8.45 kcal/mole 。故熱力學的一個 C_2 單位 (乙醯基 CoA) 之斷裂是十分有利的。在所有組織器官中發現有 β -氧化系統。但，在細菌成長中，無脂肪酸存在 β -氧化系統實際上不存在，但易於在生長介質中藉脂肪酸的存在而誘發。細菌的 β -氧化系統完全溶解，故無膜的界限。奇怪的是在含有豐富脂質的發芽種子中 β -氧化系統特別局限在叫做“乙醛體” (glyoxysome) (見第九章) 中，但在含低量脂質的種子中，酶類均與綫粒體有關。乙醛體之重要功能在第九章中已有詳論。

β -氧化系統之普通性暗示此程序之在降解脂肪酸方面有基本重要性。

13-6-2 β -氧化作用之能學 (Energetics of β -oxidation) 在棕櫚酸 (palmitic acid) 完全燃燒時，放出大量的能。



棕櫚酸 (Palmitic acid)



此勢位實際上對細胞有多大的效用？當棕櫚酸被酶的降解時，起始的活化作用需要一個ATP，而有八個含能豐富的乙醯基 -CoA 硫酯生成。每經過一螺旋循環（圖 13-5）時間 1 莫耳的 FAD-H_2 及 1 莫耳的 NADH 便形成，此等物質能被電子傳遞鏈鎖再氧化。因在螺旋的最後一轉中，產生 2 莫耳之乙醯基 -CoA，此螺旋圖解必須經過 7 次的降解棕櫚酸才完全。在此程序中還原的黃素及吡啶核甙酸之每種有 7 莫耳形成。此程序可分為兩步驟：

步驟 1：



7 對電子經黃素系統在 $2 \sim \text{P}$ / -對電子 = $14 \sim \text{P}$

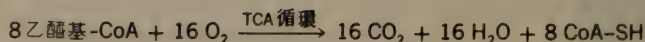
7 對電子經 NAD^+ 系統在 $3 \sim \text{P}$ / -對電子 = $21 \sim \text{P}$

總共 = $35 \sim \text{P}$

淨 = $35 \sim \text{P} - 1 \sim \text{P}$

= $34 \sim \text{P}$

步驟 2：



若在氧化性磷酸化反應中假定對消費每個氧原子產生 $3 \sim \text{P}$ 則

$$32 \times 3 = 96 \sim \text{P}$$

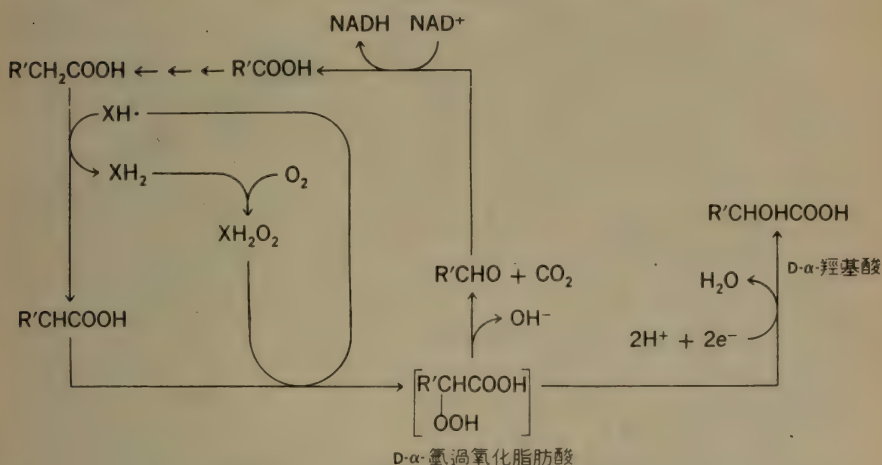
故，步驟 1 ($34 \sim \text{P}$) 及步驟 2 ($96 \sim \text{P}$) = $130 \sim \text{P}$ ；且

$$\frac{130 \times 8000 \times 100}{2,340,000} = 48\%$$

在完全的氧化棕櫚酸為 CO_2 及 H_2O 中，48 % 的有效能量能理論地轉變至一個 (ATP) 形式中即被細胞做功所使用的。其餘的能則損失了，或係成爲熱的形式。顯然何以食物如脂肪者是一種有效的能量來源。在此計算中未計入甘油之燃燒，甘油爲一三醴基甘油之其他成分。

β -氧化性系統無疑地是降解脂肪酸的第一機程，讀者應知一些其他系統之與烴鏈氧化有關的。今開始簡短討論此等機程及可能的功能。

13-6-3 α -氧化作用 (α -oxidation) 此系統首先在植物種子及葉組織中察見，也在腦及肝臟細胞中發現。在植物中此種反應之機程爲：



注意在此系統中僅自由脂肪酸用做受質及分子氧之間接地介入。生成物可能不是一個 D- α -羥基脂肪酸便是一個含有少一個碳原子的脂肪酸，此機程說明 α -羥基脂肪酸及單數脂肪酸的存在。在自然界，單數脂肪酸也能由丙酸重新合成。 α -氧化系統已示明在哺乳類組織中能氧化植酸 (phytanic acid) 的關鍵性任務，氧化之產物植醇 (phytol) 再成爲 CO_2 及水。在血清脂質中正常情形下很罕見植酸，因正常組織能夠很迅速的降解此酸。現已觀察 Refsum 病的患者，這是一種少見的遺傳病，便是缺少 α -氧化系統，

所以正常功能的 β 氧化系統不能夠降解植酸。相信在圖 13-6 中之程序能在分子觀點上解釋此疾病。此處 α - 氧化可能在某一鏈中以旁途途徑阻礙一原子團以另一方式妨止 β - 氧化系統的參與反應。

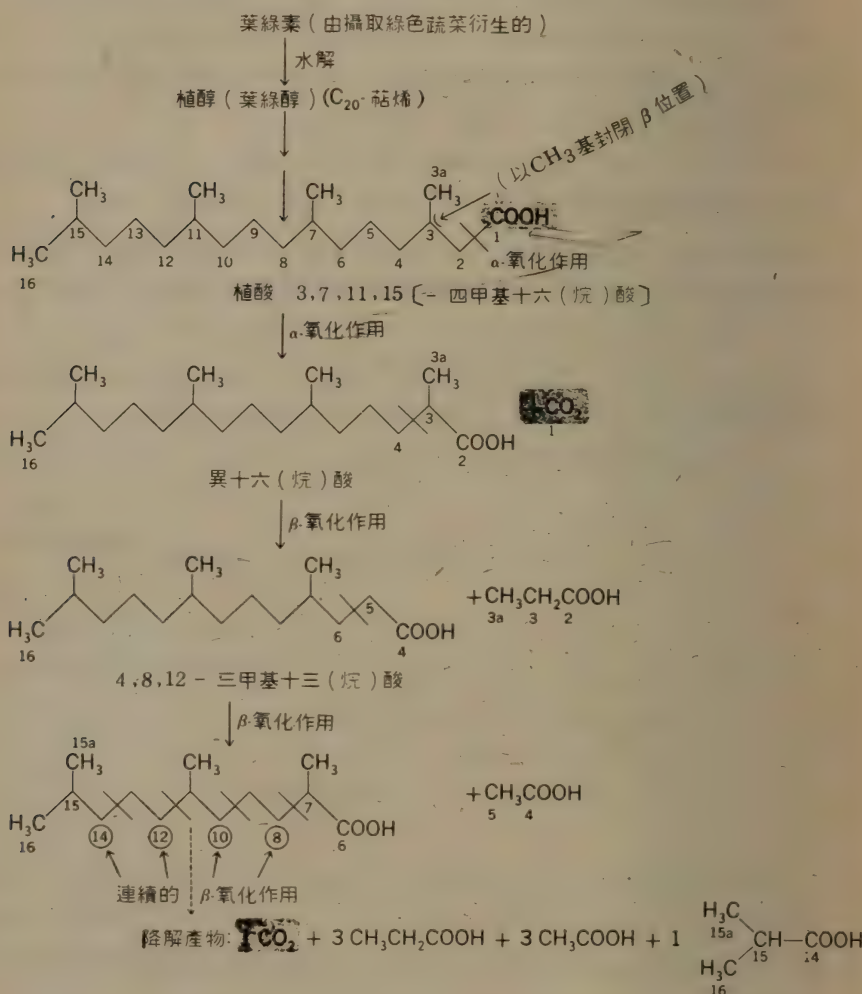


圖 13-6 正常動物細胞對植酸之代謝作用。

13-6-4 ω -氧化作用 (ω -Oxidation) 微粒體在肝細胞中迅速

催化氧化六碳烷、八碳烷、十碳烷，以及十二碳烷各酸成各對應之二羧酸便經由一細胞色素 P_{450} ω -氧化系統。此外，有些需氧的細菌已由浸油的土壤（oil-soaked soil）中分離出來；此物可迅速降解烴類，或脂肪酸為水溶性生成物。反應涉及末端甲基之起始烴基化作用為初級醇，再度續氧化為羧基酸（圖 13-7）。故直鏈烴氧化為脂肪酸，且脂肪酸再轉為 β -氧化作用之乙醯基 -CoA。此等反應系列初為普通的興趣，而現在在細菌生物降解中已認為是一個極端重要的清除任務，又是由脂肪酸衍生的清潔劑，而更重要的是清除大量飄浮在海洋上油質。估計飄浮的油質在需氧情況下細菌氧化的速率高達每天每平方米油表面 0.5g。這種油質之氧化機程主要便是 ω -氧化機程。

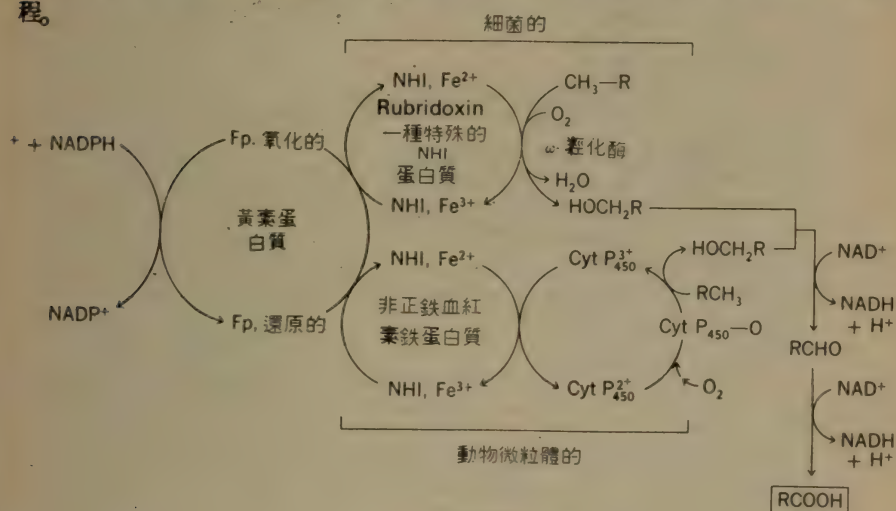


圖 13-7 在細菌的及動物的系統中負責鏈烷 (alkanes) 氧化的 ω -氧化系統。在細菌中一種特殊的 NHI 蛋白質 (rubridoxin) 為一種中間性電子載體，將電子饋送至 ω -羥基酶系統中。在動物中，細胞色素 (Cytochrome) P_{450} 系統為對於鏈烷烴基化負責的羥化酶。立即產生 $RCHOH$ ，被一醇脫氫酶氧化為一醛，此醛再被一醛脫氫酶氧化為一羧酸均在物系 NHI，及非正鐵血紅素鐵蛋白質 (Non heme iron protein) 中。

13-7 不飽和脂肪酸之氧化作用 (Oxidation of Unsaturated fatty acids)

雖然 β -氧化系統早已說明飽和脂肪酸之降解，但不能解釋單-或多-不飽和脂肪酸之氧化作用。另有兩種重要的醯類， Δ^3 順， Δ^2 反烯醇基-CoA 異構酶 (Δ^3 cis, Δ^2 trans enoyl-CoA isomerase) 及 D(-)-3-OH 醯基-CoA 差向異構酶 [D(-)-3-OH acyl-CoA epimerase] 能對此等酸做 β -氧化作用 (圖 13-8)。

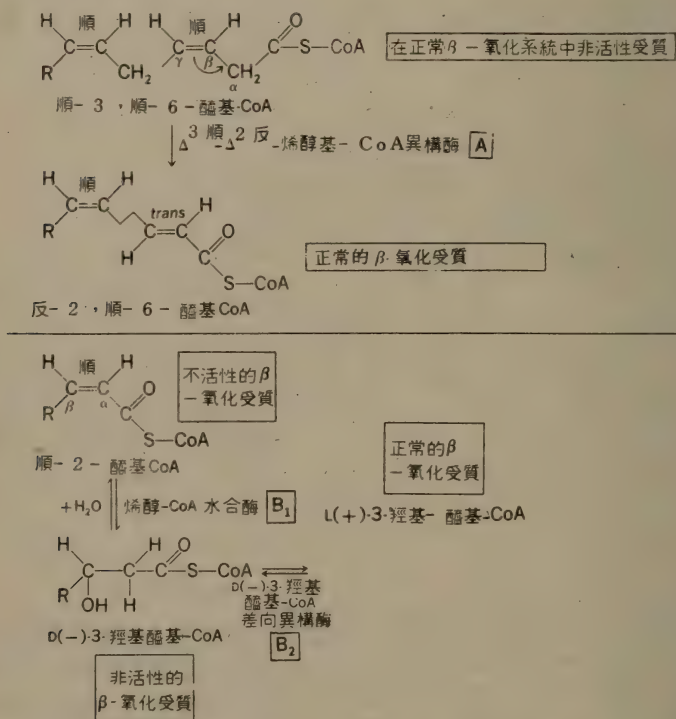


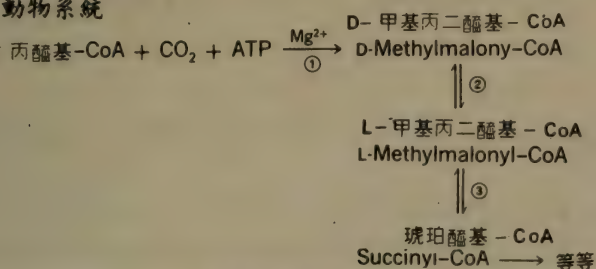
圖 13-8 不飽和脂肪酸 β -氧化之機程。

用這些在 β -氧化作用圖解中加入的各種酶類，讀者容易對油酸，亞油酸 (linoleic acid) 及亞麻酸 (linolenic acid) 之 β -氧化之一系列反應加以建立。例如用亞油酸為受質，則對於三種循環 ($3C_2$) 使用三種正常的 β -氧化酶類，然後用反應 A，再度用兩種更多的 β -氧化循環 ($2C_2$)，然後 B₁ 及 B₂，且終結用 β -氧化圖解之三種循環 ($4C_2$)。

13-8 丙酸之氧化作用 (Oxidation of Propionic Acid)

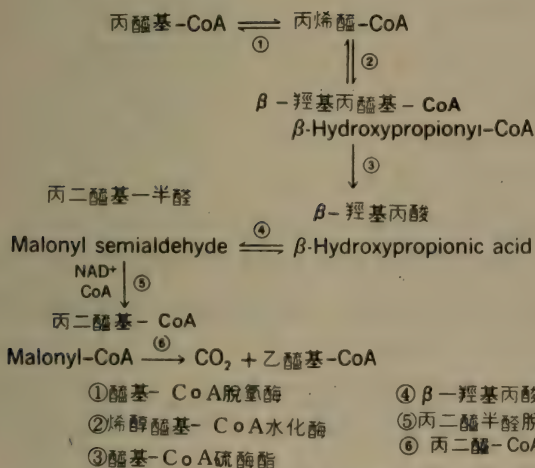
丙酸之氧化作用呈現一個有趣的問題，因乍看之下此酸對 β -氧化作用顯示是一種不安定的受質。但，此受質被兩種顯著的不同的途徑所掌握。第一途徑僅在動物組織及若干細菌中發現且涉及生物素 (biotin) 及維生素

I · 動物系統



- ① 丙醯基-CoA 羧基酶 (生物素醯酶)
 ① Propionyl-CoA carboxylase (biotinyl enzyme)
 ② 甲基丙二醯基-CoA 消旋酶
 ② Methylmalonyl-CoA racemase
 ③ 甲基丙二醯基-CoA 變位酶 (鈷醯胺輔酶)
 ③ Methylmalonyl-CoA mutase (cobalamide coenzyme)

II · 植物系統



- ① 醯基-CoA 脫氫酶
 ② 烯醇醯基-CoA 水化酶
 ③ 醯基-CoA 硫醯酶
 ④ β -羥基丙酸脫氫酶
 ⑤ 丙二醯半醛脫氫酶
 ⑥ 丙二醯-CoA 脫羧基酶

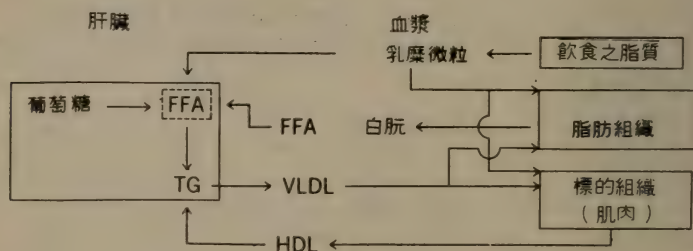
圖 13-9 丙酸降解之動植物系統圖解。

B_{12} ，而第二途徑却在植物中廣泛的存在，是一種修正的 β -氧化途徑（圖 13-9）。

植物途徑，乃在植物中無所不在的，精巧的解決何以植物能對抗丙酸的問題，此酸乃將纈氨酸（valine）及異白氨酸（isoleucine）氧化性降解的產物，並未涉及維生素 B_{12} 做為鈷醯胺輔酶，因植物無 B_{12} 官能酶，無動物系統，故在一有效方式中植物組織之修正的 β -氧化系統以旁通途徑穿過 B_{12} 這種障礙的。

13-9 酮體之形成 (Formation of Ketone Bodies)

已檢討對一細胞有價值的若干氧化性降解途徑，今繼續追踪在動物中一脂肪酸之途徑。自由脂肪酸由乳糜微粒及由脂肪組織脂肪細胞來源的 FFA - 白朮錯合物進入肝細胞中。在肝臟中由葡萄糖重新形成的脂肪酸也是對這動力地帶(dynamic pool) 中的主要貢獻者：



在正常的營養情況下，此等脂肪酸有各種遭遇（圖 13-1）。

(a) 酸類脂化為三醯基甘油。但肝臟儲存三醯基甘油是有限度的，任何過量便與 HDL〔高密度脂朮 (high density lipoprotein)〕膽甾醇脂類，以及磷脂類結合成為 VLDL 粒子〔非常輕密度的脂朮 (very light density lipoprotein)〕（第 3-12 節）此等物質現在排入血系統中，且均經由血管系統傳遞至標的組織諸如肌肉及脂肪組織。此處脂朮脂酶 (lipoprotein lipase) 移去，且轉變三醯基甘油為自由脂肪，然後為組織所吸收，且使用之。當時殘餘的 VLDL 粒子轉變為 HDL 粒子設想經由血液系統回至肝臟汲取過剩的三醯基甘油且重複此循環。

(b) 自由脂肪酸進入綫粒體被 β -氧化之, 然後被 TCA 循環轉變為 CO_2 及 H_2O 。

(c) 在綫粒體中自由脂肪酸轉變為酮體 (ketone bodies) 然後由肝臟輸送至標的組織如紅肌、腦, 及心肌去燃燒成 CO_2 及 H_2O 。最近證據強烈認定酮體對於外周肌肉為主要燃料。且在肌肉中涉及長期肌肉運動諸如長距離賽跑等的重要能量的來源。

在飢餓中, 血液中葡萄糖量減少至生理允許量的 70 % 限度以下, 正常量為每 100 ml 血液中約有 90 mg 的量, 則發生大量的儲藏之移動, 隨即脂肪酸流入肝臟及腎臟。此等組織之綫粒體有其限量蓋脂肪酸量能轉變為 CO_2 及 H_2O

因減低草醋酸之量也。結果酮體乃大量產生。 β -羥基-丁酸鹽正常地是每 100 ml 血液中低於 3 mg 量, 而每日分泌約為 20 mg。這種 50-500 倍酮體的增加將在絕食的血液發生。糖尿病患者不能以葡萄糖為能源, 端視脂肪酸之分解代謝為能量來源。糖尿病患者血液中便以積聚酮體為其特徵。久坐的人長期運後也會在血液中升高酮體之含量。有趣的是運動員很少有酮病 (ketosis) 的因為他們有很高的此等酶量, 可用於在其外周肌肉組織中的酮體上。

酮體是 D- α -羥基丁酸 (D- α -hydroxy butyric acid) 乙醯-醋酸 (aceto-acetic acid) 以及丙酮 (acetone)。經一系列的獨特反應而成的, 主要是在肝臟及腎臟綫粒體中。此等酸之生物合成摘錄在圖 13-10 中。涉及酮體合成之酶類均主要局限於肝臟及腎臟綫粒體中。酮體不能在肝臟內使用因關鍵性酶, 3 氧絡酸 (3 oxoacid) : CoA 轉基酶, 在此組織中不存在, 但在所有代謝酮體的組織中存在, 這些組織是紅肌、心肌、腦以及腎臟。

在摘要中, 酮體在肌肉及腦中對於能量來源為葡萄糖交互的受質。此酮體之先質稱為自由脂肪酸, 高濃度時為毒物, 溶解度非常有限, 且易於飽和血漿白蛋白的載負能力。酮體在另一方面是非常溶解的, 毒性亦低, 在可承受的高濃度迅速透過膜質而擴散, 且迅即代謝為 CO_2 及 H_2O 。

13-10 脂肪酸類之生物合成 (Biosynthesis of fatty acids)

本章中已由小腸之腺腔追查飲食脂類在體內至各種組織中之命運。雖然脂類之需要以飲食為其來源, 但也察見碳水化合物早已能轉變為脂肪酸, 且

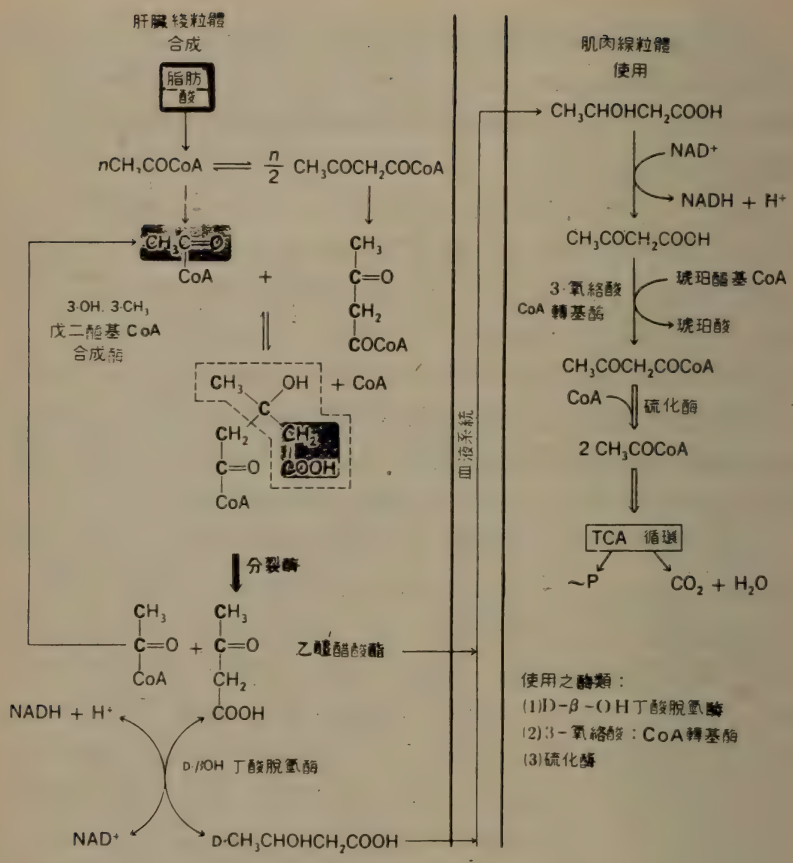
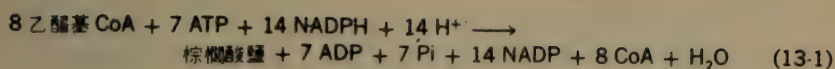


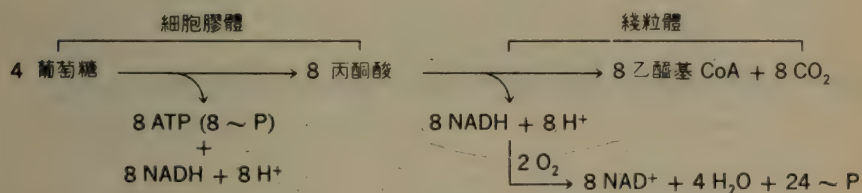
圖 13-10 酮體之生物合成及其使用。

由此儲存於脂肪組織中。今將追查此順序中有關的生化事件。
在由乙酰基 - CoA 重新合成棕櫚酸中，總反應式為：

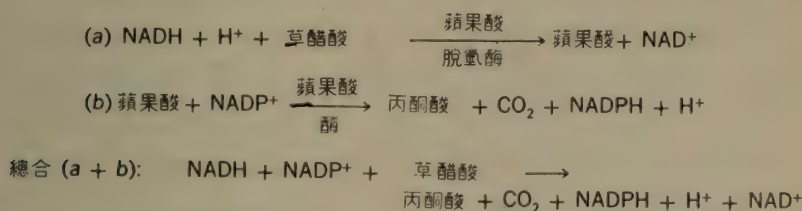


在討論脂肪酸生物合成的實際機程之前，今先檢討 ATP, NADPH, 以及乙醯基 CoA 之來源。

血葡萄糖進入肝臟細胞，在該處接受兩種重要的降解途徑(a)糖酵解及(b)戊糖磷酸途徑。糖酵解是最重要的，因能形成(a)每 2 莫耳之丙酮酸生成 2 個 ATP, (b)每個葡萄糖有 2 個 NADH 轉變為 2 個丙酮酸，以及(c)使用每個葡萄糖為 2 莫耳丙酮酸。戊糖磷酸途徑對使用每個葡萄糖提供 2 個 NADPH。對於棕櫚酸的形成需要 8 個乙醯基 CoA, 7 個 ATP, 以及 14 個 NADPH。故



在形成 8 個乙醯基 - CoA 中，一共產生 32 個 ATP, 比合成所需能量之總量為多。但需 14 個 NADPH。實驗結果昭示所需總 NADPH 之 60 % 以上是戊糖磷酸途徑所需要的。剩下的還原性能力由轉變 NADH (由糖酵解而來) 而得此 NADH, 再間接由細胞膠體的酶而成 NADPH。乃得：



最後的問題是：在線粒體中形成的乙醯基 - CoA 如何在細胞膠體中有價值。丙酮酸藉被動的擴散作用由細胞膠體至線粒體之基質中，在該處(a)以丙酮酸脫氫酶氧化為乙醯基 CoA 及(b)以丙酮酸羧化酶羧化為草醋酸。乙醯基 CoA 及草醋酸均以檸檬酸合成酶縮合成檸檬酸，然後此酸由線粒體輸出至細胞膠體。

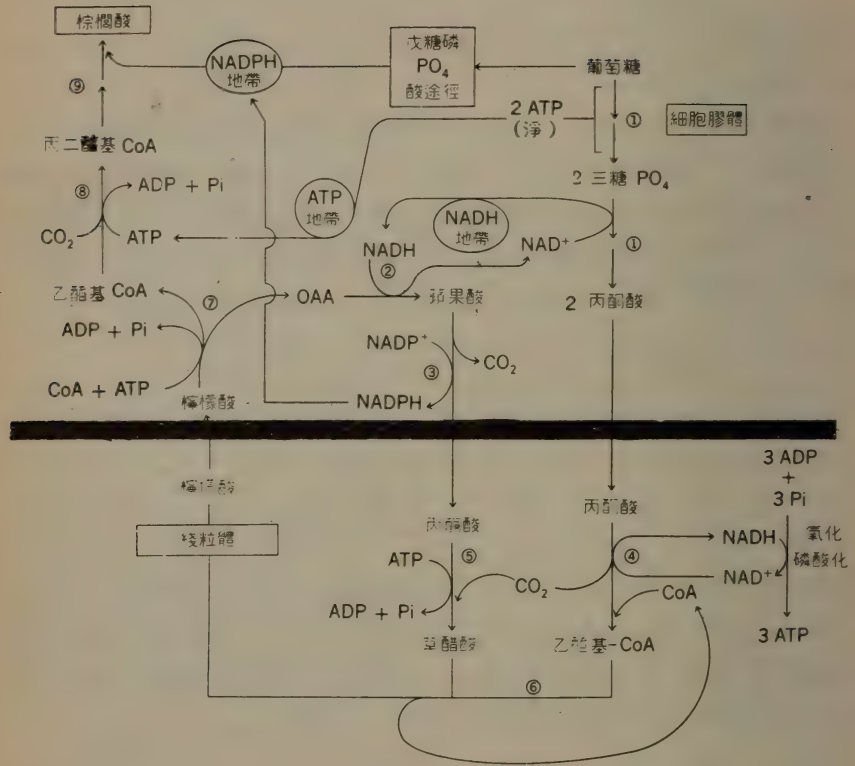
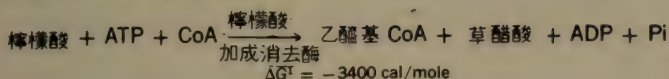


圖 13-II 在肝細胞中脂肪酸生物合成之 ATP, NADPH, 以及乙酰基 CoA 之來源。

- | | |
|-------------------|----------------|
| 1. 糖酵解 | 6. 檸檬酸合成酶 |
| 2. 蘋果酸脫氫酶 (細胞膠體的) | 7. 檸檬酸加成消去酶 |
| 3. 蘋果酸酶 | 8. 乙酰基 CoA 羧化酶 |
| 4. 丙酮酸脫氫酶 | 9. 脂肪酸合成酶 |
| 5. 丙酮酸羧化酶 | |

在細胞膠體中，檸檬酸再分裂：

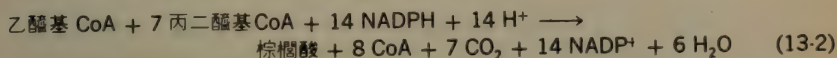


乙醯基 CoA 現已做一受質與所需之 ATP 及 NADPH 量形成棕櫚酸。全部事件之順序在圖 13-11 中圖解表示之。

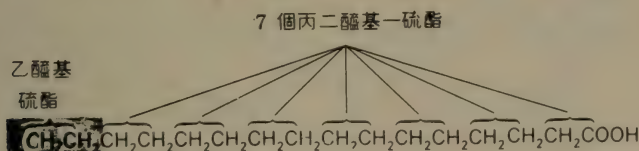
在肝臟細胞之細胞膠體中，乙醯基 CoA 必須被乙醯基 CoA 羧化酶轉變為丙二醯基 CoA。在第 8-6-3 項經已討論乙醯基 CoA 之羧化作用。



今將方程式 13-1 依一更精密的反應改良寫出：



故在棕櫚酸中碳原子之起始為：

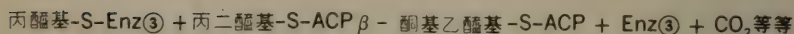
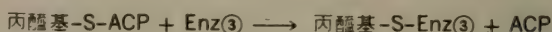
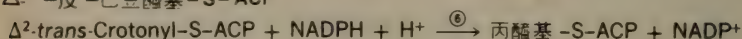
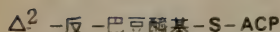
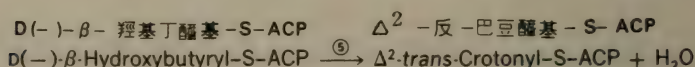
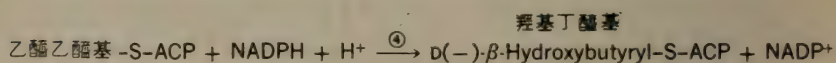
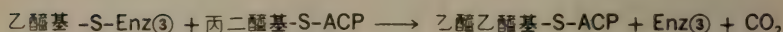
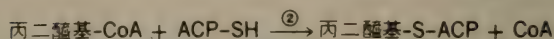
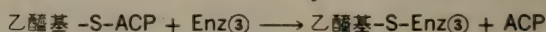
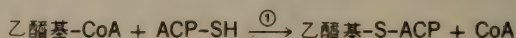


此重要反應（反應 13-2）由一種最不尋常的酶的錯合物，稱為脂肪酸合成酶錯合物所催化。在肝臟中，此錯合物分子量 540,000 且由八個蛋白質均互以共價及疏水力所維繫在一起而成的。此等錯合物之每個分子含有一分子 4' 磷酸潘特生鍵聯在“似 ACP”的蛋白質（第 8-10-3 項）上。反應之產物為自由棕櫚酸。此合成之各事項刊在圖 13-12 中。

雖然由乙醯基 - CoA 及丙二醯基 - CoA 合成長鏈脂肪酸中化學事項與在所有器官中的相同，但有兩種一般的形式合成酶現在要知道。第一種由密切聯繫的多重酶錯合體組成其行為如一單純的官能單位（肝臟合成酶錯合物）及第二種為各個酶類所組成但各個均單離的且在體外無任何聯繫傾向。第一種早已陳述過了。第二種在大多數准核的組織器官及所有高等植物細胞中發現。各單獨酶類（由大腸菌而來）已均分離，純製且結晶出來。在此型合成酶中，醯基載體蛋白質（第 8-10-2 項）是完全溶解的，而在第一型中

此等蛋白質均為堅固的複合體為一總體多重酶系統如圖 13-12 所示。

在可溶解的合成酶系統（在細菌及植物中）中發生的反應順序如下：



① 乙醯基轉醯基酶

① Acetyl transacylase

④ β -酮基醯基 ACP 還原酶

④ β -Ketoacyl ACP reductase

② 丙二醯基轉醯基酶

② Malonyl transacylase

⑤ 烯醇基 ACP 水合酶

⑤ Enoyl ACP hydratase

③ β -酮基醯基 ACP 合成酶

③ β -Ketoacyl ACP synthetase

⑥ 烯醇基 ACP 還原酶

⑥ Enoyl ACP reductase

新生成的丁醯基-S-ACP 現在與另一分子丙二醯基-S-ACP 分子及 β -酮基醯基-S-ACP 合成酶反應，且廣續的依前述概略重複進行直至達到所企之脂肪酸長度為止。對於鏈之終結作用的機程至今尚不洞悉。在動物細胞中此生成物為自由脂肪酸之棕櫚酸。要注意的重要的景象是醯基-CoA 硫酯類均對於脂



圖 13-12 由哺乳類肝臟系統合成脂肪酸之圖解。注意乙醯基—CoA 及丙二醯基—CoA 之流入填充部位及廣續的C₂及C₃單位之運動接聯在一中央的似 ACP 蛋白質上，此蛋白質對於外周方向各酶系統作用如受質成份。

脂肪酸合成並非真正的受質，且此事實說明若干早先在中間鏈中察見的 CoA 硫酯類對於脂肪酸合成不是有效的受質。

讀者應首先完全領悟以前列舉的反應以及在圖 13-12 中所引用的知識。將察見相同的反應，能掌握的此等反應其在一密切堅牢的錯合體中的及在一見有分別酶類之物系中的是十分不同的。

尤有進者，所陳述的機程說明了重新合成的脂肪酸。用丙醯基 - CoA 爲一起始化合物也說明單數飽和脂肪酸的重新合成。但，乙醯基轉醯基酶的親和力對於乙醯基 - CoA 要比對於丙醯基 - 及其他醯基 - CoA 硫酯的高得多。在動植物系統中，重新合成的中間產物均是棕櫚酸。然後此酸延長爲硬脂酸 (stearic acid) 將在第 13-12 節所述。在細菌中顯然也支持相同的系統。

13-11 葡萄糖與脂肪酸合成之比較 (Comparison of Glucose and Fatty Acid Synthesis)

比較葡萄糖的及脂肪酸的生物合成是有意義的。此等化合物雖然在結構上完全不同，但其合成方面却具十分酷似的性質。

對於糖原異生 (gluconeogenesis 又稱糖質生成) 已知必須丙酮酸鹽首先轉變爲磷酸烯醇丙酮酸鹽，並非藉一可逆的丙酮酸激酶的反應而成，却是利用糖原異生的酶類，丙酮酸羧化酶及 PEP 羧化酶而成。對於轉變丙酮酸爲磷酸烯醇丙酮酸 - 有一關鍵元素 (按即鎂離子譯者註) 是涉及 ATP 及 CO_2 的 (第 10-7-2 項)。

對於脂肪酸合成，乙醯基 CoA 並非以硫醇酶反應之逆轉而轉變爲乙醯乙醯基 CoA，因具不利之 $\Delta G'$ 。但一俟有關之 ATP 及 CO_2 超越此障礙乃形成丙二醯基 CoA。

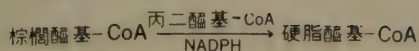
故另一說法，丙酮酸及乙醯基 - CoA 均分別爲葡萄糖及脂肪酸之開始的受質。磷酸烯醇丙酮酸及丙二醯基 CoA 均爲“活化的”受質，而且對於葡萄糖及脂肪酸之驅動力均爲 ATP 及 CO_2 ，此二者從未在進入最後產物時結合，但循環再循環往復不已。此等構想在圖 13-13 中摘要刊出。

13-12 棕櫚酸延長成爲硬脂酸 (Elongation of Palmitic Acid to Stearic Acid)

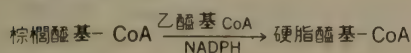
在動植物中最重要脂肪酸是 C_{18} 脂肪酸稱爲硬脂酸 (stearic acid) (18:0)，油酸 (oleic acid) [18:1(9)]，亞油酸 (linoleic acid) [18:2(9,12)]，以及 α -亞麻酸 (linolenic acid) [18:3(9,12,15)] 在第 13-10 節中陳述的系統稱爲“重新系統” (de novo system)

在動物中：

內質網膜系膜：

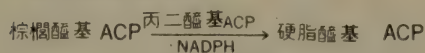


線粒體外及內膜：



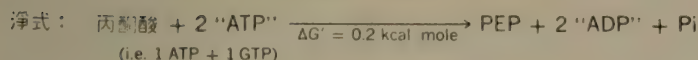
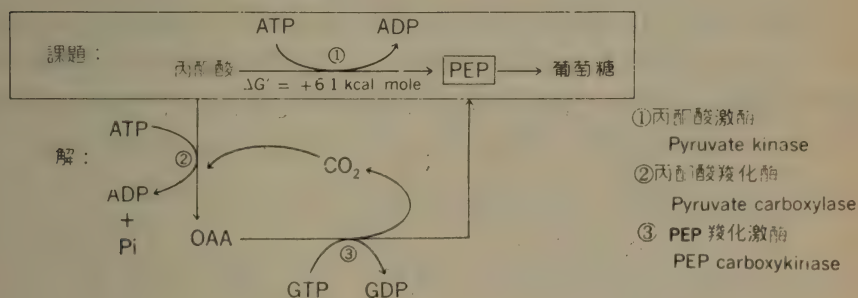
在植物中：

可溶的微粒體系統：

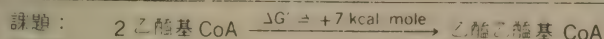


學者應了解單箭號 (\rightarrow) 表示醯類的全數，可催化具 C_2 單位的棕櫚醯基硫酯的縮合反應，還原反應，脫氫反應，以及還原為最終的生成物硬脂醯基硫酯。

葡萄糖生物合成



脂肪酸合成



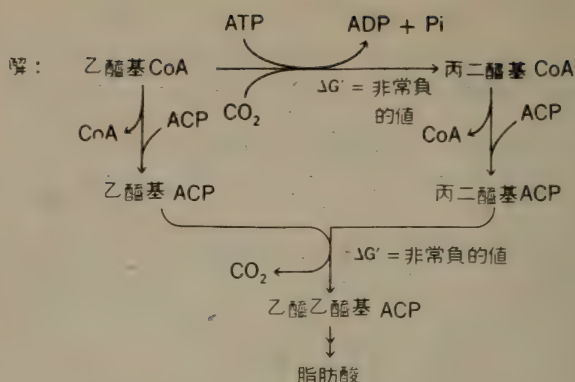
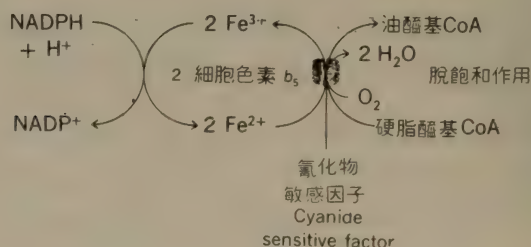
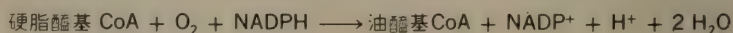


圖 13-13 葡萄糖之起始數步驟及脂肪酸合成之比較。注意在此二種系統中均涉及 ATP 及 CO_2 之再循環。

13-13 不飽和脂肪酸之生物合成 (Biosynthesis of Unsaturated Fatty Acids)

13-13-1 第一個雙鍵的引入：需氧的途徑 (Introduction of the First Double Bond: Aerobic Pathway) 在肝細胞中合成之硬脂醯-CoA 此種受質能在分子氧，NADPH 以及一與膜結合之酶系統（與內質網膜系聯接）環境下脫飽和而成油酸醯基-CoA，係依如下之程序進行反應：



此程序稱為需氧的機程 (aerobic mechanism) 且為所有動物細胞中油酸合成的總機程。在植物中有一非常類似的事件發生，除了用鐵還原氧化體 (ferredoxin) 代替細胞色素 b_5 而已，此脫飽和酶是溶解性的，且受質的硬脂酰基 ACP。而更精密的脫飽和化學機程却尚不清楚，實驗顯然支持硬脂酰基硫酯之 C_9 - C_{10} 碳原子之 $2H_D$ 原子行一順型消除作用 (cis elimination) 在動植物兩種系統中均如此。大多數脫飽和酶類均為氰化物抑制之，或係氰化物束合在一氰化物敏感因子上，此因子偶聯鐵 - 肼還原劑至此脫飽和酶上。

13-13-2 嫌氣途徑 (Anaerobic Pathway) 因大多數的真菌 (eubacteria) 能在嫌氣情況下合成單烯醇酸 (monoenoic acid)，在此等組織中分子氧之結合而直接行脫飽和機程。Bloch 氏及其小組之研究顯然昭示單純的順型雙鍵引入 C_{10} 位置之烴鏈上使鏈加長。尤其在 C_{18} 脂肪酸之合成中，支點在 $D(-)\beta$ -羥基癸酰基 -S-ACP 位置。雖然此硫酯對於許多脫水酶能做為一受質，對於 β -羥基癸酰基 -S-ACP 脫水酶 (β -hydroxy decanoyl-S-ACP dehydrase) 可做為一高度特性受質，能引入一單純的順型 β,γ 雙鍵而形成 - 順 - 3,4, 癸酰基 -S-ACP 然後再如下所指陳的成為一單烯醇酸。其他脫水酶可形成 - 反型 - α,β 雙鍵系統，但易於被還原成飽和的脂肪酸。

圖 13-14 摘要此等觀察之事實。每個箭號 (→) 表示還原脫水、還原及進一步縮合等作用之廣續發生，如在第 13-10 節中所摘要的。如前已指陳的，除 $D(-)\beta$ -羥基癸酰基 ACP 脫水酶外尚有三種其他脫水酶在細菌中操作。它們是：

(一) β -羥基丁酰基 - ACP 脫水酶，受質為 C_4, C_6 以及 C_8 酰基 - ACP 衍生物， C_4 受質最活性，而 C_8 最弱。

(二) β -羥基癸酰基 - ACP 脫水酶，其受質包括 (以活性降低為順序) $C_8 > C_{10} > C_{12} > C_6 > C_4$ 。

(三) β -羥基棕櫚酰基 - ACP 脫水酶，其受質包括 (以活性降低為順序) $C_{16} > C_{12} > C_{14} > C_{10} > \dots$ 。

此等脫水酶移去水的元素形成獨特的 α,β -反型 - 單烯醇酰基 - ACP 衍生物。

故在細菌器官中四種脫水酶呈一均衡必須維持器官能合成所需之脂肪酸。關鍵的酶， $D(-)\beta$ -羥基癸酰基 - ACP 脫水酶再朝向烴基鏈加長程序進行由飽和的變為單不飽和的脂肪酸。

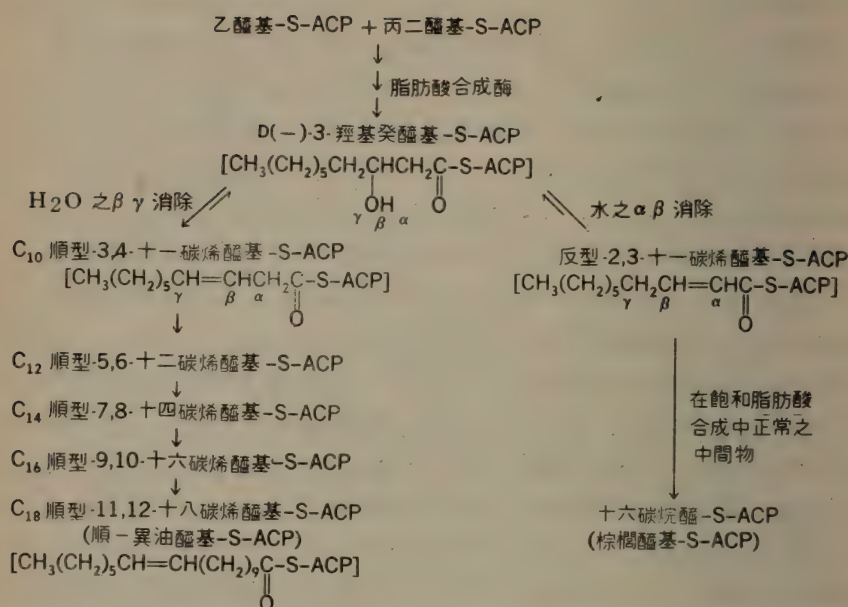
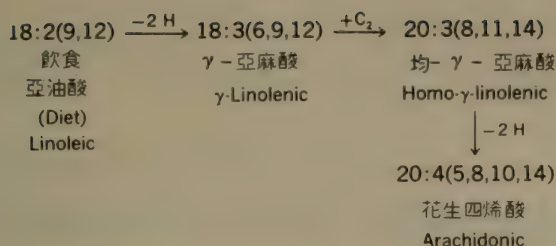


圖 13-14 在准核器官中嫌氣的途徑。

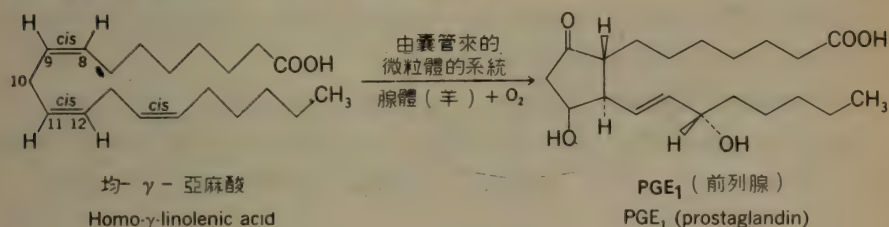
13-13-3 引入加成的雙鍵 (Introduction of additional double bonds) 在動物組織中最令人注意的代謝區段是不能脫飽和的單烯醇酸，油酸部分，朝向脂肪酸之甲基末端，而植物界却易發生此反應。故亞油酸，18:2 (9,12) 為動物所需要的，必須取自植物飲食的來源。

在肝細胞中，一綫粒體的酶脫飽和亞油醯基-CoA (linolenyl-CoA) 為 7-亞麻醯基-CoA (linolenyl-CoA)，由此再延長為均亞麻醯基-CoA (homolinolenyl CoA)，最後再脫飽和而成花生四烯醯基-CoA (arachidonyl CoA)。此醯基硫酯然後移送適當之接受者而成為磷脂，等等。茲列出如下之圖解：

在哺乳動物系統中所有脫飽和步驟，脫飽和酶 (desaturases) 均為微粒體的，受質為醯基CoA 類，NADPH 或 NADH 及 O_2 均為基本成分。也有注意脫飽和步驟均在羧基的方向。

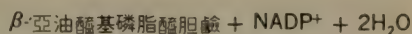
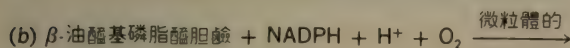


多不飽和脂肪酸的任務或與它在脂蛋白質及真核膜之極性脂質中之存在有關。在動物界中其他非常重要的功能是部分多不飽和脂肪酸的任務，即對於前列腺（prostaglandins）之合成爲先質；故：



前列腺組成一組化合物在許多不同組織上呈現生理的及藥物的效果。

在較高等植物中，亞油酸由兩種分別的途徑發生：



此二途徑之對細胞之重要關係爲何則尚未確定。

有關不飽和脂肪酸之重要性尙應稍做介紹。現在已經知曉不飽和脂肪酸在所有生命細胞中膜系統之結構中是重要的角色。所有膜系統中含有的錯合體脂質脂肪酸具不同程度的不飽和性。例如，在真核細胞中，雖然多不飽和脂肪酸並不存在，但單烯醇酸爲膜脂質之重要成分，而在真核細胞中，多不飽和脂肪酸均爲關鍵的醯基部分。在光合組織中分子量被水之光氧化作用釋出，較高不飽和脂肪酸之發現與薄膜脂質結合的實爲少數之例外。亞油酸可分類爲

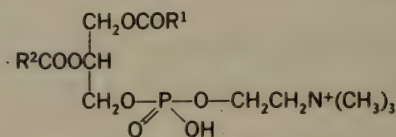
“基本脂肪酸”因在正常飲食中缺乏，故導致病理的變化，可由再引入此酸至飲食中而轉換之。准核的器官均不能合成多不飽和脂肪酸，總想在准核的組織中以沒有細胞器，諸如綫粒體、葉綠體、核……等等情形下與此觀察相互有關。

13-14 磷脂之生物合成 (Phospholipid Biosynthesis)

在第九章中已指陳，磷脂為所有膜之基本脂質成分。故其生物合成的簡短討論要在此處介紹之。

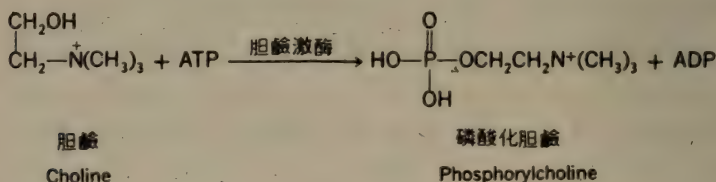
生物合成酶類均與所有真核細胞之內質網膜系結合。在准核細胞，所有對合成磷脂醯乙醇胺 (phosphatidyl ethanolamine) 之酶類以及在准核的血漿膜中主要的磷脂，均與血漿膜結合的。

若考察磷脂醯膽鹼 (卵磷脂) [phosphatidyl choline (lecithin)] 之結構，注意其基本單位為長鏈脂肪酸 ($-\text{OCOR}^1$ 及 $-\text{OCOR}^2$ ；後者大多數總是多不飽和的)，甘油，磷酸鹽，以及膽鹼。它們如何聚合在一起的？

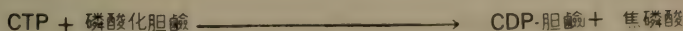


卵磷脂 (3-Sn- 磷脂醯膽鹼)
Lecithin (3-sn-Phosphatidyl choline)

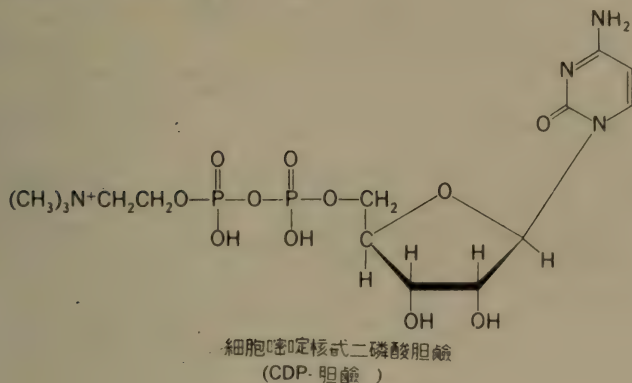
在真核細胞中一個有次序的事件順序均由特殊酶類所催化，將各分別的單位聚合在一起。第一反應為膽鹼之磷酸化作用：



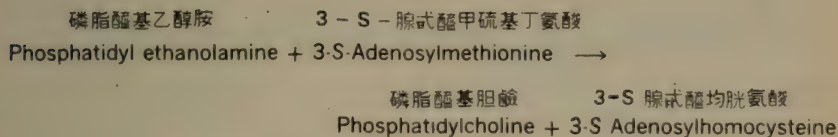
磷酸化膽鹼於是與 CTP 化合成細胞嘧啶核甙二磷酸鹽膽鹼 (CDP - 膽鹼)
[cytidine diphosphate choline (CDP - choline)] :



CDP - 膽鹼之完全結構為：

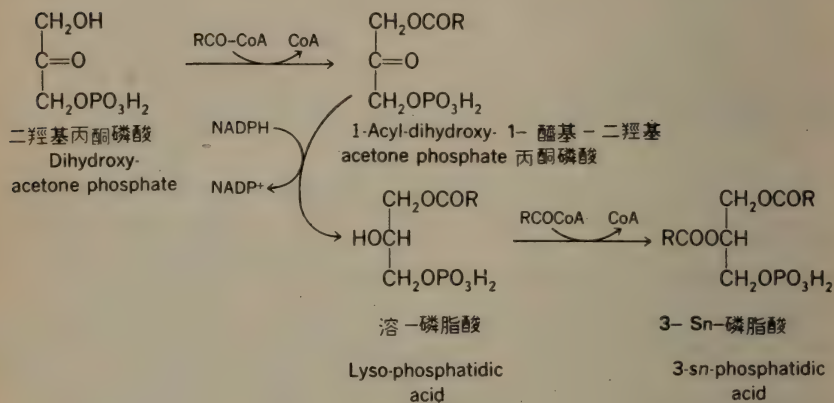


最後的集結體在圖 13-15 中示明，乃磷酸化膽鹼部分轉遞至二醯基甘油上形成磷脂醯膽鹼。磷脂醯膽鹼乙醇胺及磷脂醯基絲氨酸也以相似機程形成之。磷脂醯基膽鹼也能藉磷脂醯基乙醇胺之甲基化經 3-S- 腺甙甲硫基丁氨酸作用而成：



但應注意此等機程均甚重要，對於磷脂之合成另有機程已經描述，且可參攷在本章末所列之資料加以討論。

對於磷脂酸生物合成有一種二羥基丙酮磷酸鹽途徑已有陳述, 其式如下:

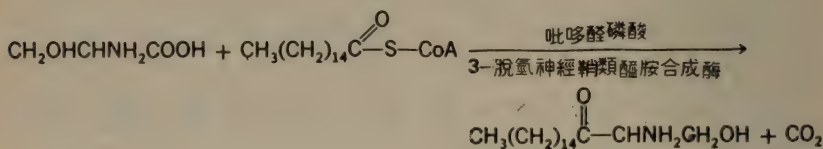


13-15 神經鞘類脂物之生物合成 (Biosynthesis of Sphingolipids)

神經鞘類脂物之生物合成詳述其他錯合的脂類為何由更不同的情況經由三醯基甘油及磷脂的系列而集聚。

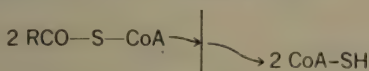
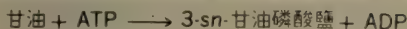
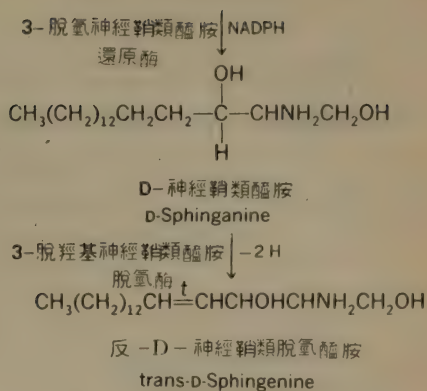
步驟 I.

絲氨酸加棕櫚醯基 - CoA 轉變為 3 - 酮基神經鞘類醯胺 (3 - ketosphinganine) :



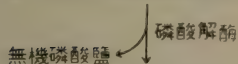
步驟 II.

轉變為 4t-神經鞘類醯胺



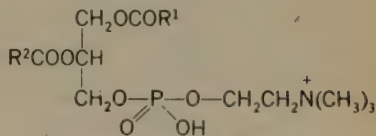
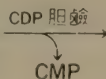
3-sn-磷脂酸

3-sn-Phosphatidic acid



Sn-1,2-二酰基甘油

sn-1,2-Diacylglycerol



3-Sn-磷脂醯基胆鹼

3-sn-Phosphatidyl choline

步驟 III。
最後轉變為
神經鞘磷脂

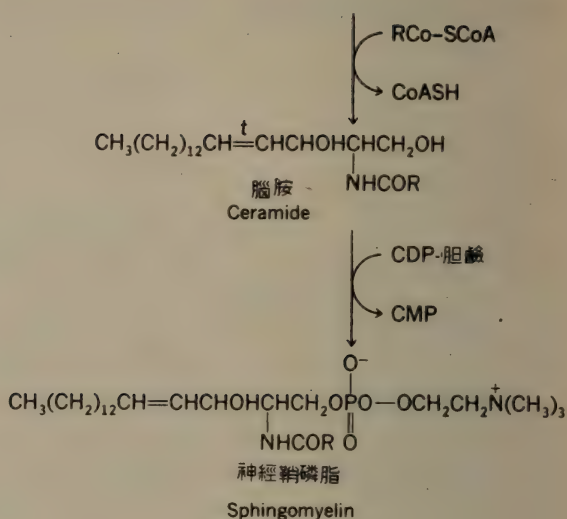
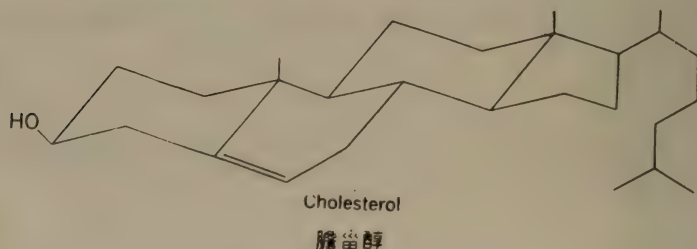


圖 13-15 磷脂酰基膽鹼之生物合成。

13-16 膽甾醇（即膽固醇）之生物合成（Biosynthesis of Cholesterol）

早在 1930 年膽甾醇之化學結構已經確定，此複合的環系之生物生成却引起迷惑。解決此問題幾乎是這四十年來的許多研究人士的努力結果。

此分子之環狀結構是平面的，可書寫為：



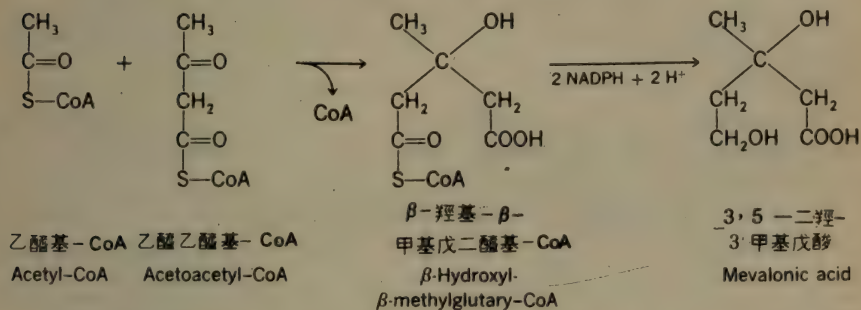
膽固醇之所有的碳原子均直接來自醋酸。反應與生物合成中發現的涉及直鏈脂肪酸合成者迥然不相同。此等生物合成能分為三組反應：

(一) 3,5-二羥-3-甲基戊酸 (mevalonic acid) 之形成。

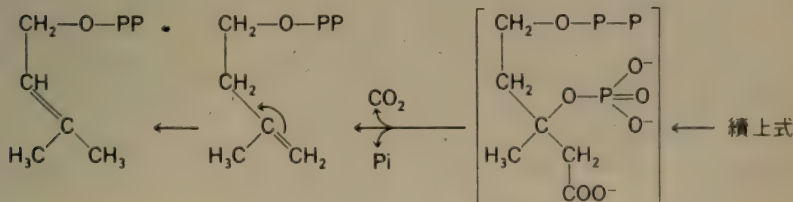
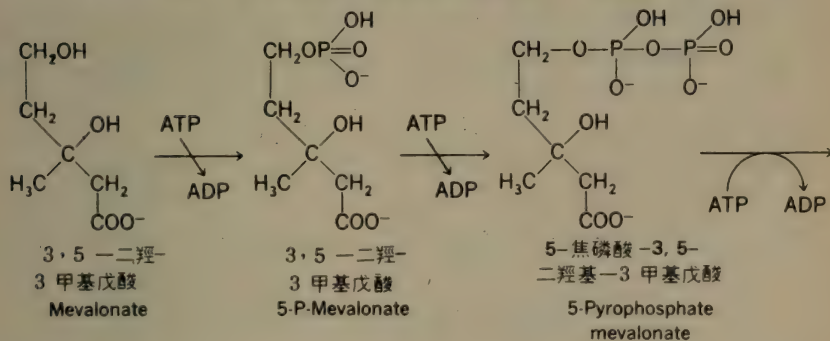
(二) 3,5-二羥-3-甲基戊酸之轉變為角鯊烯 (又稱三十碳五烯) (squalene)。

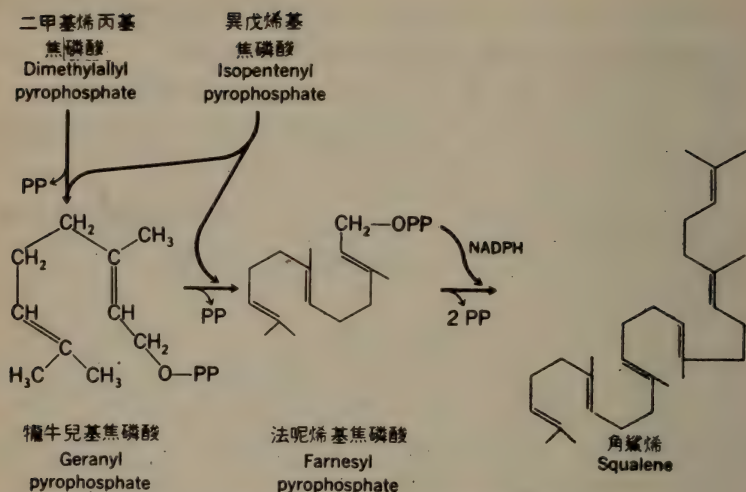
(三) 角鯊烯之轉變為羊皮甾醇 (lanosterol)，然後再轉變為膽甾醇。

(一) 醋酸 \rightarrow 3,5-二羥-2-甲基戊酸 (微粒體的酶類)：

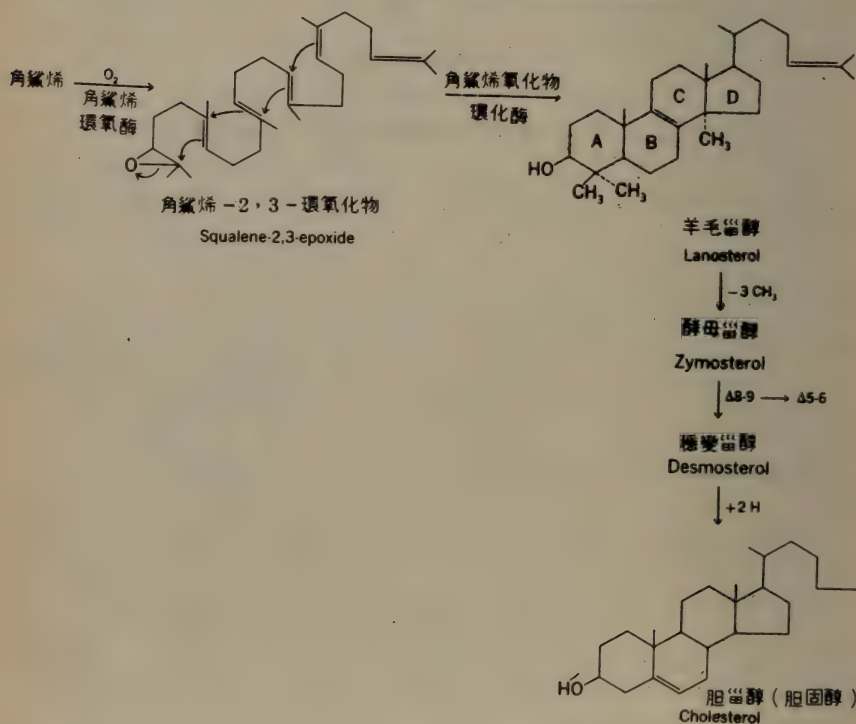


(二) 3,5-二羥-3-甲基戊酸鹽轉變為角鯊烯 (可溶酶類)：





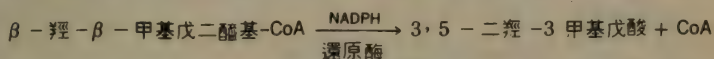
白 角鯊烯 → 羊毛甾醇 → 膽甾醇 (需氧的及微粒體的) :



13-17 胆固醇合成之調節作用 (Regulation of Cholesterol Synthesis)

膽固醇是在所有動物組織中合成的膽甾醇。此外飲食中各種不同量之膽甾醇在人體內提供總濃度。

當飲食中膽甾醇豐富時，重新合成顯著地被抑制；當缺乏時，則發生重新合成。並無證據顯示膽甾醇抑制酶類將 β -羥基- β -甲基戊二醯-CoA 轉變為 3,5-二羥-3-甲基戊酸。營養的結果不能用生物化學的說法說明。



斷食也能抑制膽甾醇之合成，雖然如何抑制尚未明瞭。雖然膽甾醇環在動植物中易於合成，准核的器官不能合成環系統，雖然能形成聚異戊間二烯化合物之色素 (polyisoprenoid pigments)。昆蟲不能合成膽甾醇，故對進一步的轉變為重要的昆蟲激素諸如皮粒體 (ecdysome) 只有利用外面的來源，一種膽甾醇之氧化的衍生物。在脊椎動物 (vertebrates) 中，膽甾醇為側鏈及環系統之改善的複合體的受質而轉變孕甾酮 (progesterone) 雄性激素 (androgens)，雌性激素 (estrogens) 以及皮質甾類 (corticosteroid) 等，所有特別重要的哺乳類激素。

參考文獻

1. N.M. Packter, *Biosynthesis of Acetate—Derived Compounds*. New York: Wiley, 1973.
有關脂質之許多重要論題，為一優良的短篇著作。
2. S. Wakil, ed., *Lipid Metabolism*. New York: Academic Press, 1971.
為深造的讀者是一本有關脂質代謝各種問題最新的十分完全的論著。
3. T.W. Goodwin, ed. *Biochemistry of Lipids*. MTP International Review of Science Series One. Vol. 4 Baltimore: University Park Press, 1974.

在脂質化學中是一本現代的主要課題的論著。

習 題

1. 當長鏈脂肪酸以 β -氧化作用及 Krebs 循環以如下各反應被氧化為 CO_2 及 H_2O 時。利用 $\text{R}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ 對於脂肪酸結構的分子式，對於其他化合物以對於複雜的輔因子諸如 NAD^+ , CoASH , 等之縮寫，舉每種反應之一實例。均衡各方程式，且指出所有必需的輔因子。酶類的名稱則非所需。
 - (a) 涉及一碳 - 碳鍵之斷裂的反應。
 - (b) 需要 FAD 為一輔因子之反應。
 - (c) 需要 FAD 為一輔因子之另一反應。
 - (d) 形成一碳 - 硫鍵之反應。
 - (e) 消耗 H_2O 之反應。
 - (f) 消耗 H_2O 之另一反應。
 - (g) 以丙二酸抑制一反應。
 - (h) 一可逆的氧化性脫羧化反應。
 - (i) 發生一異構作用的反應。
2. 寫出一系列酶 - 催化的反應，藉此反應丙酮酸能轉變為己酸 (caproic acid) 一種六碳酸 (hexanoic acid)。用結構分子式，不必寫出有關之輔酶。
3. 詳細解釋何以一動物不能對 - 脂質淨的轉變為烴類有效而一植物或微生物都可以。請用有關之酶 - 催化反應說明之。
4. 何以酮體能積集在一動物中藉其純粹的脂質飲食，但在一植物或微生物使用脂質僅是做為碳 - 能的來源試以六至八句簡短、扼要、完全的語句說明之。
5. (a) 葡萄糖及己酸 (六碳酸) 均為 6- 碳化合物。你希望何者能藉生命細胞產生更多的 ATP (每莫耳) 而完全氧化為 CO_2 及 H_2O ? 為什麼 (以非常普通的化學詞彙)?
 - (b) 求計藉需氧器官由一莫耳己酸完全氧化所產生的 ATP 莫耳數。明白

說明你的工作。

- (c) 簡短的列舉脂肪酸氧化途徑及脂肪酸生化合成途徑間主要之不同處。
 - (d) 何謂“酮病”(ketosis)。
6. (a) 詳細敘述在較高級植物中之亞油酸 (linoleic acid) 生物合成用自由油酸 (oleic acid) 爲起始物。
- (b) 雖然動物不能重新 (de novo) 合成亞油酸，何以單不飽和脂肪酸，不像油酸，會在動物中轉變爲亞油酸？

第十四章

電子傳遞及氧化性磷酸化作用

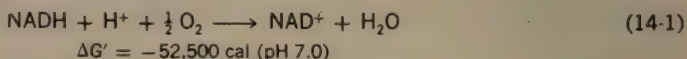
Electron Transport and Oxidative Phosphorylation

目標 在本章中要描述線粒體的電子傳遞連鎖的性質，且討論氧化性磷酸化作用的程序。氧化性磷酸化作用的學說要介紹，而內線粒體膜的選擇性透過的一般問題亦要討論了。細胞代謝物質之氧化作用及ATP之產生二者間之關係要介紹。催化氧原子直接進入有機受質的酶類（加氧酶，oxygenases）也要陳述。

14-1 引言 (Introduction)

在線粒體中存在的丙酮酸及乙醯基-CoA之氧化作用往往稱為碳水化合物代謝作用“需氧相”(aerobic phase)。但，此名稱會引起誤解，因丙酮酸及乙醯基-CoA二者均也能由非碳水化合物來源獲得。此外，需氧一項也不夠嚴格的正確，正如在前封裡中所陳述的各種反應，因中間氧化劑為菸鹼胺(nicotinamide)及黃素核甙酸(flavin nucleotides)而不是氧。在糖酵解程序中，菸鹼胺及黃素核甙酸在細胞中之量有限，且在氧化的核甙酸供應量枯竭時便反應中止了。故，對於有機受質之氧化作用欲繼續進行，還原的菸鹼胺及黃素核甙酸必須再氧化。

在真核的細胞中，再氧化是由局限在血漿膜上的酶類完成的；在真核的質中所需之催化劑均在隣近基質之線粒體的內膜中，在該處核甙酸被還原（見第9-6節）。在所有需氧的組織中最終的氧化劑為氧分子，而且，對於NADH場合，可寫出全反應為：



酶類完成此氧化反應包括一“電子-傳遞鏈”(electron-transport chain)在此鏈中一系列電子載體交互還原及氧化之。

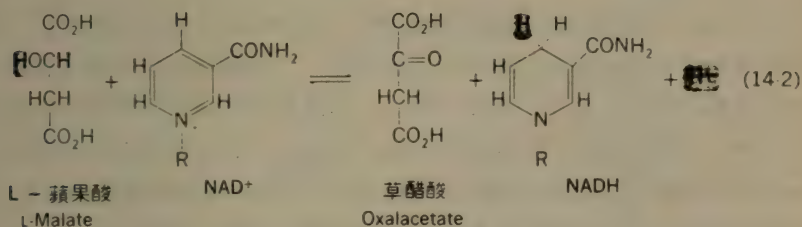
此種被 O_2 之再氧化 NADH 作用伴生一大的自由能之降低（見第 14-5 節）。此量是以每莫耳 NADH 被氧化為許多莫耳之 ATP。催化 ATP 產生之酶類，即 NADH 之被氧化也局限在線粒體中的內膜內。雖然此程序稱為“氧化性磷酸化作用”，或者最好稱為“呼吸鏈鎖磷酸化作用”（respiratory chain phosphorylation）。此程序將在討論電子傳遞鏈鎖之後再陳述之。

14-2 在電子傳遞中涉及的成分

（Components Involved in Electron Transport）

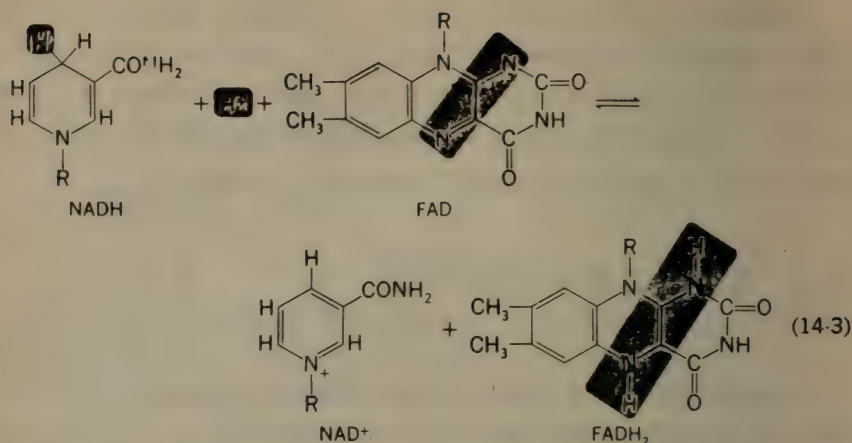
有五種不同的電子載體參與由受質之傳遞電子，因此等受質在線粒體中被氧化也。在電子傳遞鏈鎖陳述之前，先簡述每種如下。

14-2.1 菸醯胺核武酸（Nicotinamide Nucleotides） 此等輔酶類（輔受質，cosubstrates）及其相關之脫氫酶（酶肱，apoenzymes）均早在第 8-3.3 項中）較詳細的敘述了。在三羧酸循環中，有關由受質，蘋果酸及異檸檬酸移去相當的兩個氫原子有兩種氧化作用。在另外兩種，丙酮酸脫氫酶及 α -氧代戊二酸脫氫酶中，電子均先輸往硫辛酸，然後經由一 FAD-酶至 NAD^+ 。



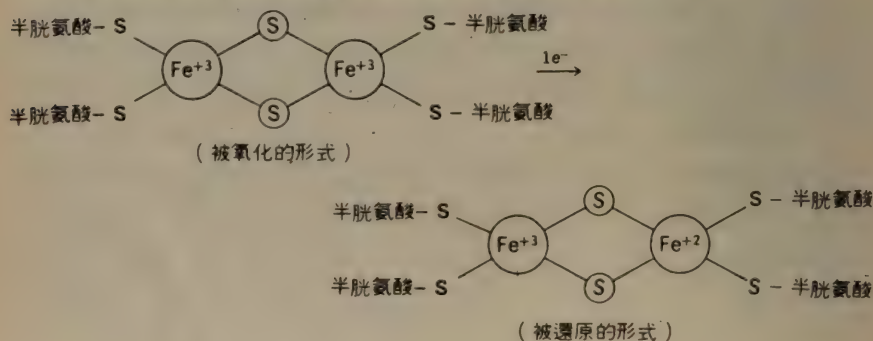
14-2.2 黃素肱（Flavoproteins） 黃素肱之輔基（prosthetic group，又稱非肱基）是黃素輔酶 FAD 及 FMN。此等輔因子與菸醯胺核武酸輔酶為對比，均與蛋白質部分結合十分緊密且在若干例證（即琥珀酸脫氫酶）中均共價的與蛋白質鍵合。

在其最簡單的形式中，黃素輔因子接受由 NADH 來的兩個電子及一個質子，或由一有機受質諸如琥珀酸而來的兩個電子及兩個質子。與 NADH 之反應可表示如下：



線粒體的呼吸鏈鎖之黃素肼則更複雜，在其中含有或緊密的與非正鐵血紅素鐵（ NH I ）蛋白質結合。故牛心線粒體之 NADH 脫氫酶每個重 200,000 之粒子含有 1 FMN 及 8 個 Fe 原子。鐵呈示為非正鐵血紅素的鐵，且與不穩定的硫原子（見以後及第 15-6 節）結合。因黃素輔因子能在形成一個半醌時接受一個電子，黃素肼表示在呼吸鏈鎖上一點該處電子能一次傳遞一個而不是成對的。

14-2.3 非正鐵血紅素鐵的蛋白質（Nonheme Iron Protein） 此型之蛋白質知其在線粒體電子傳遞的功能以前，已在植物中固定氮以及光合成中便知為鐵還原氧化體（ferredoxin）。其最具化學特徵是在酸化時放出 H_2S （酸之不穩定硫）而且也能移出鐵。鐵原子，往往兩個或更多個均排列在一個鐵-硫橋中，此橋轉而鏈接在蛋白質中之半胱氨酸殘基上。所有 Fe-S -蛋白質其特性為具低的 E_0' 值便是指示為電子載體的任務。



tohematins), 且想像對於呼吸程序是重要的。其結果頗多批評之處, 且最後終被遺忘直至此等成分在 1926-1927 年間在英國經 Keilin 氏再度被發現。Keilin 氏的古典實驗證明此等細胞色素 (cell pigment) 即細胞色素 (cytochrome), 在大多數所有生命組織中發現, 且暗示在細胞的呼吸中對此等受質為一基本要角。

Keilin 氏的研究昭示在每種組織中往往是三種型式的細胞色素, 分別以 a, b 及 c 標識之。其含量彷彿比例於組織器官之呼吸活性, 例如心臟及其他含有最大量之此等色素的活化肌肉。對於細胞色素的研究易於進行是因為能吸收不同波長的光為其特徵。如圖 14-1 中所示如細胞色素 c 之被還原及被氧化態的吸收光譜; 注意被還原載體之 α , β 及 γ 帶之最大位置。細胞色素 b 及 a 有其 α -吸收最大點分別在 563 nm 及 605 nm 處。

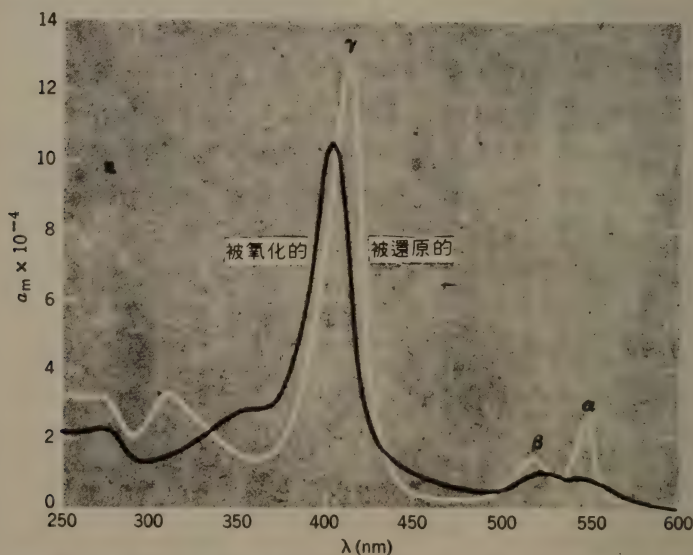
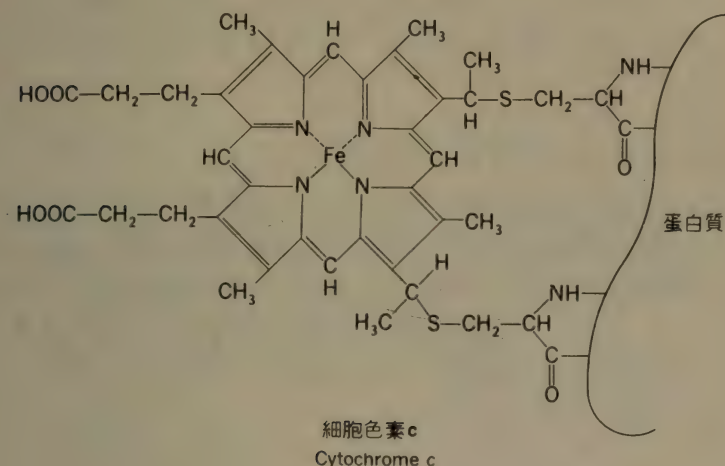


圖14-1 細胞色素c 之氧化及還原態吸收光譜 [E.margoliash之數據
D.Keilin 及 E.C Slater重製 "Cytochrome" British medical
Bulletin 9:89(1953). Reproduced by permission of the Medical
Department, The British Council, London.]

只有由線粒體的膜而來的細胞色素 c 易於溶解; 其結構已廣泛研究 (見第 4-10.1 項)。另外的細胞色素已經值得, 尤其在細菌中的已依據原始的很相像的細胞色素加以分類。在動物, 植物, 酵以及微菌細胞中均具線粒體,

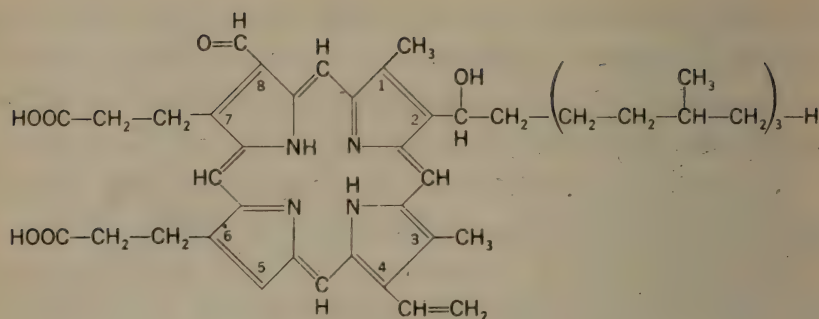
細胞色素在此細胞器中幾乎均有發現。在細菌中之細胞色素均局處於血漿膜中。哺乳動物線粒體中除含有細胞色素 *a* , *b* , 及 *c* 外, 尚有另一種稱為 *c*₁ 的, 具有一 α 帶在 554nm 處是在電子傳遞鏈中有功能的。 哺乳類微粒體含有細胞色素 *b*₅ 其吸收帶在 557 nm 處。

吸收光譜與其他之細胞色素在一齊指示此等化合物均為共軛的蛋白質具有鐵樸啉 (iron porphyrin) 為一非肽基, 細胞色素 *c* 之非肽基結構為:



此乃鐵-原樸啉 IX (第 17-13 節) 之一種衍生物, 且透過硫醚與蛋白質成分中之半胱氨酸殘基鍵聯。鐵樸啉之與細胞色素 *a* 及 *b* 聯結的已知並不相同, 因在吸收光譜方面不一樣; 由此更可確認由化學之研究樸啉的結構。細胞色素 *b* 之非肽基已知為鐵-原樸啉 IX (iron-protoporphyrin IX) 本身。細胞色素 *a* 之樸啉則為樸啉 A, 有一長的氫化異戊間二烯化合物單位的疏水性鏈為其重要特徵。樸啉 A 很像葉綠素的樸啉。

許多細胞色素易與 HCN, CO 及 H₂S 形成錯合物, 此等錯合物可由其特性吸收光譜偵測得知。此等試劑可藉其能占據一個或同時兩個配價位置的 Fe 原子上起反應。而並非占據在樸啉之吡咯 (pyrrole) 環之氮原子上。在細胞色素 *c* 中有兩個位置為其他結構所占據, 在中性 pH 不能與 HCN, CO, 及 H₂S 成為錯合物。在細胞色素 *a* 中有一位置正常的為 O₂ 所占據, 被還原則與 HCN, CO 以及 H₂S 能成為錯合物。對於細胞色素 *a* HCN 之高親和力事

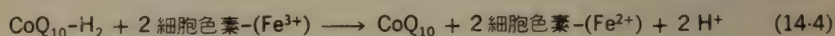


模啉 A

Porphyrin A

實在在需氧器官中正可解釋HCN之劇毒性也。

研究溶解的細胞色素 *c* 確認 Keilin 氏在完整組織中所察見的，即細胞色素能交互的還原與氧化。被還原的細胞色素之鐵為高鐵，經一電子併入進至鐵原子之價殼層中便還原之成為低鐵。誠然此性質使細胞色素之功能在電子傳遞程序中為一載體。如前所指陳的，細胞色素在 $\text{CoQ}_{10}\text{-H}_2$ 被再氧化時則還原之。因每個被還原的醌能對鐵色素之還原提供兩個電子，欲與一分子被還原的醌反應需要兩分子的細胞色素：



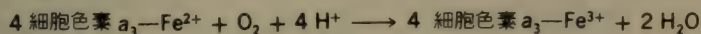
此反應釋出兩個質子至介質中以均衡之。

在電子傳遞鏈中細胞色素被還原已早確定。若三羧酸循環之一種氧化的受質（即蘋果酸）加在一線粒體懸浮體上且將此被觀察的混合物，在需氧情況下置一分光光度計中，被還原的細胞色素 *b* 吸收光譜首先出現，然後是細胞色素 *c*₁，*c*，以及 *a* 各光帶次第出現。然後，當 O_2 引入此懸浮體中時，屬於細胞色素 *a* 之光帶首先消失，然後依次為 *c*，*c*₁ 以及 *b*。此途徑已推廣至電子傳遞鏈中之其他載體。均具特性光譜在此鏈中的順序位置上。如此操作，位置幾乎直接符合開始用 NADH 之此等成分的還原電位 ($E'_0 = -0.32\text{V}$) 及最終用細胞色素 *a* 的 ($E'_0 = +0.29\text{V}$)；(表 6-3)。

討論細胞色素應特別注意細胞色素 *a* 及 *a*₃。二者組成細胞色素氧化酶 (cytochrome oxidase)，多年來均在需氧菌 (aerobes) 中電子傳遞鏈內用以描述為最後的載體或“終結氧化酶” (terminal oxidase) 這術語。

細胞色素氧化酶之被還原的形式已知能還原分子 O_2 為 H_2O ，對於 1 莫耳 O_2 還原需要總數為四個電子的程序。

細胞色素氧化酶與內線粒體膜的緊密結合致使其鐵-槩啉系統 (iron-prophyrin system) 的研究很困難。證據指示此酶為一錯合體 (240,000 分子量)，由六個次單位組成，每個含有一個正鐵血紅素 A 原子團 (基) 及一個銅原子。此六聚物有兩個單位與其他的有不同的吸收光譜，稱為細胞色素 a ，均不能直接與 O_2 反應。其餘的四個單位稱為 a_3 ，還原形式的此等細胞色素在細胞色素 c 環境下能與 O_2 反應。不用任何有關此反應的機程，可書為：



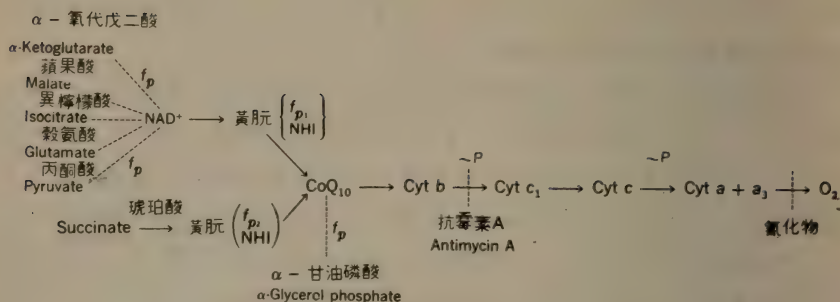
還原的細胞色素 a_3 與一氧化碳結合成一錯合物，可被光分解。在生物化學中有一古典實驗中，Warburg 氏確定此錯合物之作用光譜以建立此系統之鐵-槩啉性質。細胞色素氧化酶之氧化形式 (高鐵) 對於氰化物具非常高的親和力，且不能被還原。此所以解釋氰化物之有劇毒性。

14-3 呼吸鏈鎖 (The Respiratory Chain)

前述載體能在線粒體的膜內被還原 (圖 14-2a)。在起始步驟中氫原子由不同受質中移去再至 NAD^+ 處。在若干場合電子進入鏈鎖之 CoQ 位置。最後這載體便是細胞色素。

所示載體之順序由許多證據支持：用敏銳的分光光度計能測得氧化的及還原的載體之相對量，二者在完整組織中及在線粒體的懸浮質中。若一氧化的受質加入後者中， NAD^+ 將被察見為更完全的還原載體，而細胞色素氧化酶 (細胞色素 $a + a_3$) 更為完全的氧化。若懸浮質是嫌氣的， NAD^+ 首先變得完全還原了，隨之為黃朮，普醌，以及細胞色素所回轉。若抑制劑諸如抗霉素 A (antimycin A)，能抑制所添加的細胞色素 b 及細胞色素 c_1 間之反應，則所有載體之在此點左方的變得完全還原，像電子進入封鎖的鏈鎖中。所有在此點右方的載體則變得完全氧化，因均不再接受由受質地帶 (substrate pool) 中而來的電子。

近年來，所示排列的證據已由表示電子傳遞鏈鎖之不同部分：“次線粒



(a)

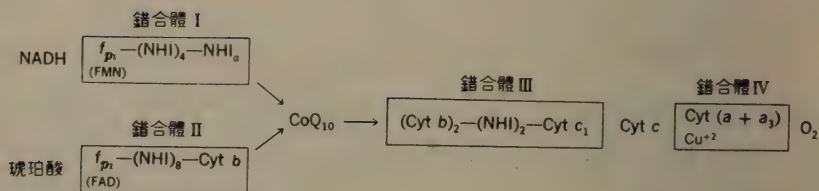


圖14-2 (a) 載體之順序

(b) 次線粒體之錯合體。

體碎片”之單離所提供。此等碎片均為結構的組織錯合體，這些錯合體只能實行呼吸鏈鎖本身的某部分，但在與其他錯合體及輔酶Q及細胞色素c再結合時便能作用如原來的鏈鎖了。故錯合體I，III，及IV可由NAD⁺至O₂傳遞電子，對於琥珀酸之氧化作用需要錯合體II，III，及IV。（見圖14-2b）

CoQ之位置及細胞色素c在此四種錯合體任何一種之外強烈示明此等載體之獨特的能被萃取而不瓦解各錯合體。此等錯合體之研究已領悟何以真正的複襍是在電子傳遞鏈鎖中載體的排列情形了。

在電子傳遞鏈鎖中載體順序的明朗化有助於研究伴生由受質至O₂傳遞電子的磷酸化作用。此呼吸鏈鎖磷酸化作用的程序現在能討論了。

14-4 氧化性的磷酸化作用 (Oxidative Phosphorylation)

經一生命機構碳受質之降解主要目標乃是為該機構之發育及成長產生能

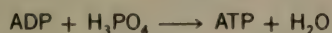
量。在嫌氣的糖降解為乳糖，若干有效之能量在糖分子中轉變為能量豐富的磷酸鹽化合物，這些化合物對生命機構是有價值的。在第十二章中指出。在丙酮酸經三羧酸循環之反應氧化為 CO_2 及 H_2O 時葡萄糖中有90%以上的有效能量釋出。但在此程序中，只有一種含能量豐富的化合物，稱為琥珀酰基-CoA (succinyl-CoA)，即由循環本身之受質反應合成的；在琥珀酸硫激酶 (succinic thiokinase) 環境中，此硫酯用於轉變GDP為GTP。

詳細研究生物機構中能量豐富化合物之產生，知有兩種不同的磷酸化作用程序。在其中之一程序內，磷酸化或硫酯化的此受質衍生物起始的產生，然後再廣續用以產生ATP。此等之實例是糖酵解的反應，其中形成1,3-二磷酸甘油酸及磷酸烯醇丙酮酸且與ADP反應成為ATP，(第10-4.7及10-4.10項)也和Krebs循環中藉琥珀酸硫激酶之催化反應一樣(第12-4.5項)。此等磷酸化作用程序稱為“受質-階段磷酸化作用”(substrate-level phosphorylations)，以別於與電子傳遞結合之磷酸化作用，後者往往稱為氧化性磷酸化作用(oxidative phosphorylation)。

1937年頃，Belitzer氏在俄國及Kalckar氏在美國均觀察得經肌肉組織均聚氧化丙酮酸過程中有這種磷酸化作用存在。雖然丙酮酸分子之廣續命運在當時尚未明瞭，氧為組織均漿所消費，且無機磷酸被酯化為己糖磷酸。若反應為氰化物或由 O_2 之移去而抑制，二者之磷酸化作用及氧化作用便均停止。故，一糖磷酸鍵之合成與一生物的氧化作用有關，其中氧是消費的。

許多重要的進展更簡化了此重要程序的研究。首先，在1948年，Kennedy及Lehninger兩氏示明單離的鼠肝線粒體催化氧化性磷酸化作用與Krebs循環中間物的氧化作用偶聯。現今，已知線粒體之內膜是此型磷酸化酶類的所在地。在細菌中，在細胞膜中較小的單位含有磷酸化作用集合體。

其次是發現只有在線粒體中能鑑別的磷酸化作用反應才併入無機磷酸至ADP中形成ATP：

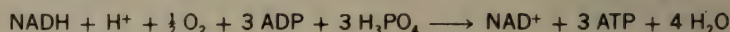


顯然這是一種需要能量的反應；若所有反應物均在標準狀態， ΔG （依定義為 $\Delta G'$ ）將為+7300 cal/mole。因反應物均無疑為1M之濃度， ΔG 相當大，或者大至+12,000 cal/mole。

第三，線粒體電子傳遞鏈鎖之組成已詳加研討；及第四，在線粒體環境

下被 O_2 氧化 NADH 本身已示明導致形成 ATP 是經由無機磷酸之進入 ADP。這種重大意義的觀察應強調均為 Friedkin 及 Lehninger 兩氏的功績。

若將 NADH 加在含有 ADP, 無機磷酸, Mg^{2+} , 以及動物或植物線粒體的混合物反應中 (該線粒體已能適當的製備, 見以下線粒體的透過性之討論) 則 NADH 被氧化為 NAD^+ , 及 1 個 O_2 的原子被還原。如前所述, 因線粒體含有完整的電子傳遞鏈鎖。與此氧化作用同時無機磷酸乃與 ADP 反應為 ATP。在理想條件下, 在形成 2 及 3 莫耳 ATP 之間將消費每個 O_2 之原子。因線粒體含有 ATP-酶, 也能催化用 ATP 的側反應, 相信 3 莫耳之 ATP 之形成乃每莫耳之 NADH 被氧化或一個氧原子被消費。其圖解的表示如下:

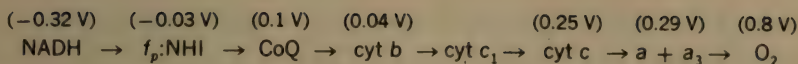


此反應也可以說有一個 P : O 為 3 : 1 之比, 以描述在氧化作用中磷酸酯化之磷原子與消費的氧原子之比。因蘋果酸及異檸檬酸之氧化作用呈現 P : O 比率為 3 : 1, 磷酸化作用在 NAD^+ 做為一氧化劑被還原之後則假定可與此等受質會結合。對於琥珀酸, 其 P : O 之比為 2 : 1 同樣可指示當此化合物被氧化時, 這是一種較少的磷酸化作用步驟。

許多實驗的證據支持一結論, 即磷酸化作用的發生乃是一對電子沿電子傳遞鏈鎖進行, 如圖 14-2 中所示。當還原的細胞色素 *c* 被分子氧氧化時 (被錯合體 IV 作用之催化反應) 只有一種磷酸化作用發生。在圖 14-2 中只有一種磷酸化作用部位示明在細胞色素 *c* 之右方。當 NADH 被細胞色素 *c* 氧化時 (錯合體 I + III) 有兩種磷酸化作用發生 (每莫耳之被氧化的 NADH 形成兩個 ATP) 且在鏈鎖中形成之假定的部位已示明。

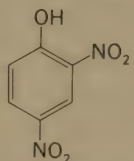
此等作用之一種位置在 NAD^+ 及 CoQ 之間的範圍內, 因有如下之觀察: 對於琥珀酸氧化作用 P/O 比值為 2。因由琥珀酸來的電子分享僅由 CoQ 至氧的電子傳遞途徑, 且因一種磷酸化作用發生在細胞色素 *c* 及 O_2 之間的圖解中, 對於琥珀酸氧化作用之第二種磷酸化作用必須在 CoQ 及細胞色素 *c* 間發生, 及第三種, 由 NADH 直至氧, 必須在 NAD^+ 及 CoQ 間發生。此等發現均由觀察錯合體 I, III, 及 IV 可催化每種磷酸化反應, 雖然各有不同之還原率這事實所支持。

更進一步的支持是沿電子傳遞鏈鎖將磷酸化作用的步驟定域化, 這是由各個載體之不同 E'_0 值求得的 (又見第 6-7 節)。



顯然在 $\text{NADH} \rightarrow f_p\text{:NHI}$; $\text{cyt } b \rightarrow \text{cyt } c$, 及 $\text{cyt } a \rightarrow \text{O}_2$ 有三種 E'_0 值為較大的“邦浦”。在所有三種不同場合中, $\Delta E'_0$, 證實有一 ΔG 約略大至足以解釋透過呼吸鏈鎖在 NADH 之氧化歷程中有 3 個 ADP 磷酸化為 3 個 ATP 。(又見 6-6 節)

實驗的證據是基於抑制劑及非偶聯劑 (uncoupling agent) 之使用支持圖 14-2b 中所指陳的位置。非偶聯劑為不與 ATP 合成反應偶聯的化合物。此 ATP 合成反應即經由細胞色素系統之電子傳遞而來的。此即電子傳遞雖進行, 但不發生 ADP 之磷酸化作用。在整體線粒體中, 此等二程序密切結合。當它們不偶聯時, 則電子的傳遞實際上是快速的, 由此指示 ADP 之磷酸化作用有一速率限制的程序。2,4-二硝基酚 (2,4-dinitrophenol) 是一種對於非偶聯呼吸-鏈鎖磷酸化反應最有效的試劑。它在糖酵解中發生的受質階段磷酸化反應上無任何效應。其他非偶聯的例是: 水楊鹽替苯胺 (salicylamide), 短桿菌肽 (gramicidin), 以及賴氨基黴素 (valinomycin 一種新發現之黴素)。乏黴素 (oligomycin) 及芸香黴素 (rutamycin) 均可抑制電子傳遞及氧化性磷酸化反應。



2,4-二硝基酚
2,4-Dinitrophenol

非偶聯劑也已經用於研究氧化性磷酸化反應的機程。有三種學說流行, 在此程序的能量關係概要的敘述後再討論。

14-5 氧化性磷酸化作用之能學

(Energetics of Oxidative Phosphorylation)

在第六章中已知 1 莫耳 NADH 被 O_2 分子氧化之 $\Delta G'$ 值由 NAD^+/NADH

及 O_2/H_2O 之還原電位求計約為 $-52,000\text{ cal}$ 。因此 O_2 之氧化 $NADH$ 經過細胞色素電子傳遞系統導致形成三條高能磷酸鍵，能量守恒程序之效率求計值為 $-21,900$ (即 3×-7300) 以 $-52,000$ 除之；或 42% 。

現在能摘要的敘述無機磷酸之酯化作用，此作用伴生由三羧酸循環氧化丙酮酸為 CO_2 及 H_2O 之反應。在此程序中氧化步驟導致還原的菸醯胺及黃素輔酶類的產生；當此受質均由線粒體之電子傳遞系統途徑再氧化時，氧化性磷酸化反應程序便導致由 ADP 及無機磷酸之產生 ATP 。

表 14-1 列出產生能量豐富的磷酸化合物的不同反應；每莫耳被氧化的丙酮酸所合成的高能量磷酸鍵總數為 15。因丙酮酸之氧化為 CO_2 及 H_2O ，結果得自由能變化為 $-273,000\text{ cal}$ (第十二章)，能量守恒之效率在此程序至少是 $-109,000$ 或 (-7300×15) 以 $-237,000$ 除之，或 40% 。

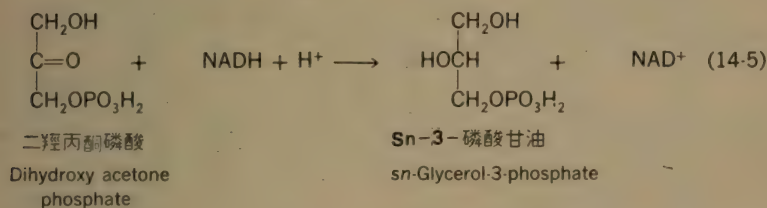
表 14 - 1 藉三羧酸循環在丙酮酸氧化反應過程中形成之能量豐富的磷酸鹽

或酶式程序	反應	產生能量豐富之磷酸鹽
丙酮酸脫氫酶	丙酮酸鹽 + NAD^+ + $CoASH \longrightarrow$ 乙醯基-CoA + $NADH + H^+ + CO_2$	0
電子傳遞	$NADH + H^+ + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O$	3
異檸檬酸脫氫酶	異檸檬酸 + $NAD^+ \longrightarrow$ α -氧代戊二酸 + $CO_2 + NADH + H^+$	0
電子傳遞	$NADH + H^+ + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O$	3
α -氧化戊二酸脫氫酶	α -氧化戊二酸 + $NAD^+ + CoASH \longrightarrow$ 琥珀醯基-CoA + $NADH + H^+ + CO_2$	0
電子傳遞	$NADH + H^+ + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O$	3
琥珀酸硫激酶	琥珀醯基-CoA + $GDP + H_3PO_4 \longrightarrow$ 琥珀酸 + $GTP + CoASH$	1
琥珀酸脫氫酶	琥珀酸鹽 + $FAD \longrightarrow$ 反丁烯二酸 + $FADH_2$	0
電子傳遞	$FADH_2 + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow FAD + H_2O$	2
蘋果酸脫氫酶	蘋果酸 + $NAD^+ \longrightarrow$ 草醋酸 + $NADH + H^+$	0
電子傳遞	$NADH + H^+ + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O$	3
		總計 15

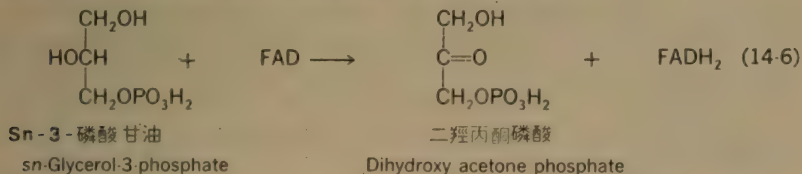
在計算欄中，能估算葡萄糖需氧的氧化為 CO_2 及 H_2O 時（見圖 14-3）合成高能磷酸鹽鍵之總數。1 莫耳葡萄糖轉變為 2 莫耳丙酮酸形成兩個高能磷酸鹽，便是糖酵解順序中受質-階段磷酸化反應的結果。在三羧酸循環中更進一步的 2 莫耳丙酮酸之氧化反應形成第三個高能磷酸鹽。此外，有四至六個更高能量的磷酸鹽加成 32 個。當葡萄糖在糖酵解中轉變為二分子丙酮酸時，後者不還原為乳糖，此所以在細胞質中存留兩分子 NADH 。而此 NADH 能再被其他細胞質的脫氫酶氧化，在一組織中活潑的氧化葡萄糖完全變成 CO_2 及 H_2O 此二分子 NADH 應被該組織之電子傳遞鏈鎖氧化恰為所產生的 NADH 被 Krebs 循環中間物氧化一樣。

在准核組織器官中，應無特殊問題，因 NADH 應假定容易接近血漿膜與其含有電子傳遞鏈鎖及磷酸化酶類的呼吸組合。故在葡萄糖氧化為 CO_2 及 H_2O 形成總數為 38 個 ATP。

真核器官的線粒體內膜並不透過 NADH ，且使用一種有關 *sn*-3-磷酸甘油之穿梭程序（schuttle process）。在此程序中，在糖酵解中產生之 NADH （或在任何其他細胞質的氧化-還原反應中）均首先被二羥基丙酮磷酸在細胞質的 3-磷酸 *sn*-甘油脫氫酶環境下再氧化。



生成之 3-磷酸-甘油易透過線粒體的膜中，且進入內膜至基質(matrix)在該處再被氧化，此時使用的脫氫脫酶是 FAD 而不是 NAD^+ ：



產生之 FADH_2 藉此黃素脫提供電子至 CoQ 階段之電子傳遞鏈鎖（見圖 14-2），且與琥珀酸，在 CoQ-H_2 被氧化而形成兩莫耳之 ATP，欲穿梭的操作，在反

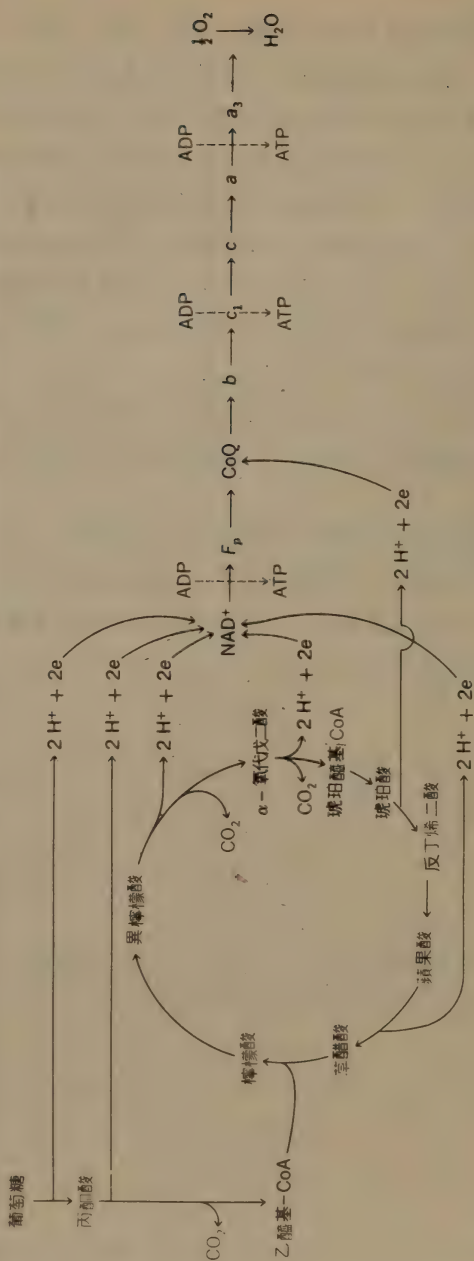


圖14-3 碳化合物代謝：電子傳遞；氧化性磷酸化作用。

2 受質階段磷酸化作用 $-2\text{ATP} = 2\text{ATP}$ $2 \times [2\text{H}^+ + 2\text{e}] \text{ NAD 氧化性的}$

磷酸化作用

 $2 \times [2\text{H}^+ + 2\text{e}] \text{ NAD} \quad -/-$ $3 \times 2[2\text{H}^+ + 2\text{e}] \text{ NAD} \quad -/-$ $2 \times 1[3\text{H}^+ + 2\text{e}] \text{ FAD} \quad -/-$

2 受質階段磷酸化作用

糖酵解

丙酮酸鹽

檸檬酸循環

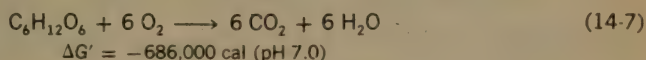
 $= 6\text{ATP}$ $= 6\text{ATP}$ $= 18\text{ATP}$ $= 4\text{ATP}$ $= 2\text{ATP}$

共計

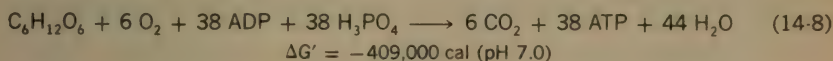
 38ATP

應14-6中產生的二羥丙酮磷酸乃穿出線粒體進入細胞質中（見圖14-7b）。此穿梭操作僅在此方式中描述，換言之傳遞還原當量進入線粒體中，或者因是沿電子傳遞鏈鎖有電子的巨大單向運動的原故。由兩個細胞質的NADH之產生傳遞還原當量，在動物線粒體中1莫耳之葡萄糖轉變為丙酮酸結果產生四個高能磷酸鹽或對於在一真核質中葡萄糖完全轉變為 CO_2 及 H_2O 時則得總數為36個ATP。

如前述，對於葡萄糖被 O_2 氧化為 CO_2 及 H_2O 之 $\Delta G'$ 已由卡計數據求計：



若對此能量之攫取無任何機程，對熵項（見第六章）又若可忽略不計，則將在周圍環境中以熱的形式釋出。然則，細胞能保存大部分此能量，即偶聯此釋出之能量至ADP與 H_3PO_4 合成的能量豐富的ATP中。若38莫耳的ATP在葡萄糖氧化中形成則呈現總數為 38×-7300 或 $-277,000 \text{ cal}$ 。此量之能量應在反應14-7中以熱的形式釋出，乃以此量縮減之，且全部氧化及磷酸化反應今可寫做：



保存277,000 cal為能量豐富磷酸鹽所表示的效率是保存的能277,000除以-686,000或40%。此攫取的能量對於生命細胞是一種值得注意的成就。

14-6 能量轉變程序 (The Energy Conversion Process)

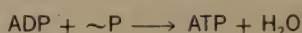
磷酸化反應機程與電子傳遞之結合對於糖酵解中磷酸化反應步驟有基本的差別，在糖酵解中受質之能量豐富磷酸化形式（即1,3,二磷酸甘油酸或磷酸烯醇丙酮酸）尚未鑑別。無論在何等卓著的研究所（如Boyer, Chance, Green, Lardy, Lehninger, Mitchell, Racker, Slater 依字母序排列）中此問題均尚未解決。

此問題之困難性質是因為氧化性磷酸化作用為一程序與內線粒體膜的性質密切相關。即與電子傳遞及起始磷酸化作用程序發生的膜有關。膜也涉及

離子傳遞的進及出線粒體基質。因在電子傳遞中由 NADH 移動一還原當量至 O_2 則有 6 當量的酸 ($6H^+$) 輸出基質。同時 K^+ 能輸送進入基質以維持電荷之中性。 Ca^{+2} 及其他二價陽離子則在呼吸過程中積聚在基質內，其進行對不同抑制劑均敏感。再者，若 K^+ 之某一濃度梯度能穿過線粒體的膜，則可以用做驅動 ADP 之磷酸化反應。

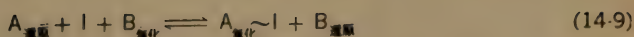
尚有內膜之其他性質是“迴流的電子流”(reverse electron flow)，在其中琥珀酸能用以還原 NAD^+ 。由 E_0' 值(表 6-3)便可求計一高能量程序且不發生任何顯著的延伸，除非向其中另加能量。在 ATP 環境下，又可察見被琥珀酸還原的 NAD^+ 。或者電子經由錯合體 II 又由琥珀酸流至 CoQ，然後在一迴逆方向穿過錯合體 I 至 NAD^+ ，供應的 ATP 却似一添加的能量。

故揭露氧化性磷酸化反應的機程的研究已有數種：實驗電子傳遞與磷酸化作用的關聯；使用抑制劑及非偶聯劑；單離次線粒體的錯合體及其他蛋白質部分。在最後這種蔓延性工作中，Racker 氏所得之蛋白質因子稱為“偶聯因子”(coupling factors)，即回加至非磷酸化的錯合體 I 時，便能恢復此錯合體之活性，實行磷酸化作用。此等因子中之一種 F_1 ，是 ATP 酶，分子量為 280,000 (見第 9-6 節)。已能純製且不含電子傳遞鏈鎖的成分對於 F_1 之稱為 ATP 酶，或者是遺憾的，因該酶功能如一特殊的磷酸轉移酶 (transphosphorylase) 其催化反應為：

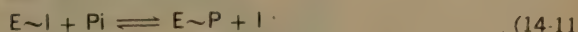
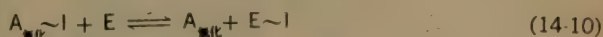


14-7 氧化性磷酸化作用之機程 (Mechanisms of Oxidative Phosphorylation)

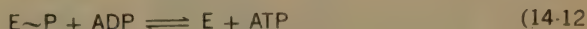
14-7.1 化學的偶聯假說 (Chemical Coupling Hypothesis) 在過去三十年間對此問題已竭盡大力的工作。有三種假說繼續領導此工作是不足驚異的。最老的一種是“化學的偶聯假說”(chemical coupling hypothesis)，與糖酵解中的觀念類似，其說法是在氧化性磷酸化反應產生的 ATP 是在電子傳遞中遭遇一能量豐富的中間體之結果。尤其，在 $A_{\text{還原}}$ 及 $B_{\text{氧化}}$ 間發生的氧化-還原反應，因子 I 介入能量豐富結構 $A_{\text{氧化}} \sim I$ 之形成中，在該處 \sim 代表具一能量豐富性質的鍵聯：



在廣續的反應中， $A_{\text{氧化}}$ 為 E （一種酶）取代而成為一能量豐富的 $E \sim I$ 錯合體；無機磷酸依次反應成一磷酸酶錯合體 $E \sim P$ 含有能量豐富的酶-磷酸鍵（enzyme-phosphate bond）：



此酶-磷酸成分最後與 ADP 反應成 ATP：



此等部分反應（14-10 至 14-12）可說明 ^{32}P -標識的無機磷酸進入 ATP 結磷酸位置上的交換情形。雖然已設想有 $E \sim P$ 及 $E \sim I$ 之性質，但如此化合物迄未在線粒體中鑑別出來。

14-7.2 化學滲透的偶聯假說（chemiosmotic coupling hypothesis） 在氧化性磷酸化作用中由反應 14-9 至 14-12 因欲鑑定任何能量豐富的中物而失敗迫使這些工作人士另以其他學說來解釋此程序了。英國的 P. Mitchell 氏是“化學滲透假說”的為首解說者，因其主要的實驗觀察，六個 F 離子自線粒體輸出乃由 $NADH$ 及 O_2 移出一對電子這事實。Mitchell 氏曾想線粒體之內膜不能穿過質子（ H^+ ）的。再者，產生或消耗 H^+ 之電子傳遞鏈鎖中發生此等步驟，在內膜中此等酶之如此空間排列是被消耗的質子（ H^+ 由基質中出來，且此產生之質子（ H^+ ）在膜際之空間內釋出（圖 14-4）。或者另一說法是 $NADH$ 之氧化反應結果，質子之梯度建立了，再穿過不滲透性的膜。於是在 ADP 磷酸化反應中 Mitchell 氏倡言形成之水由解離為 H^+ 及 OH^- 之方式而移去，形成之 H^+ 及 OH^- 再與膜之兩側上過量存在的 OH^- 及 H^+ 分別反應。在此方式中 ATP 及 H_2O 之形成（由 ADP 及 H_3PO_4 ）得由穿過膜的 H^+ 濃度驅動之。（圖 14-5）

14-7.3 形態的偶聯（Conformational Coupling） 磷酸化作用的第三種假說乃是觀察內膜在電子傳遞過程中遭受某種結構的變化，且此變化能被 2,4-二硝基酸及乏黴素（oligomycin）所抑制。在線粒體中，在過量 ADP 環境下可活化磷酸化作用，內膜與外膜分離，且假定有一“凝縮態”

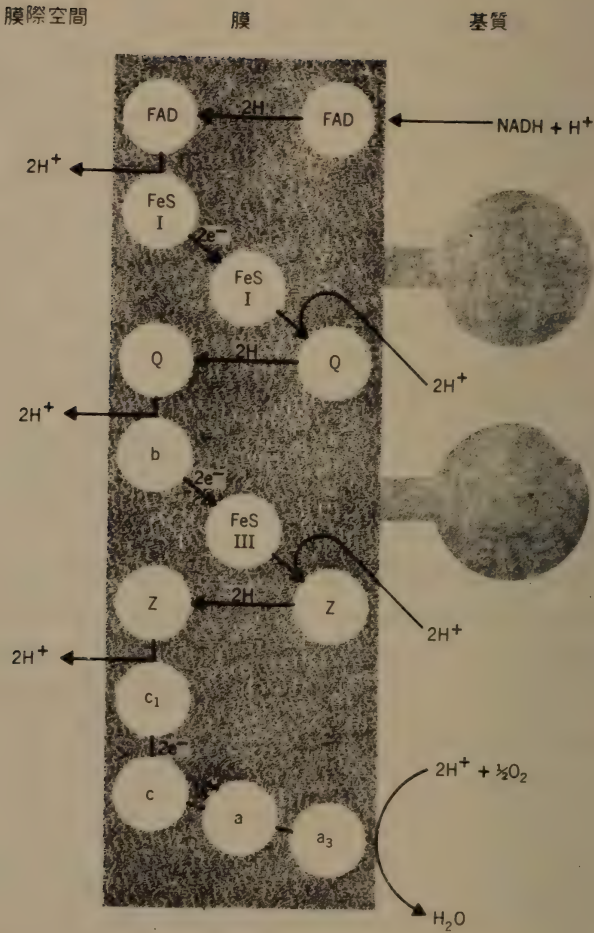


圖14-4 在綫粒體的膜中電子傳遞鏈鎖之成分排列情形。注意三種載體 (FMN, 輔醌Q (Q) 以及一種假設的載體) 均表示為由基質而來的質子(H⁺)接受體, 且將其釋入膜際空間內。採自 F.M.Harold, Bacteriological Reviews 36,172, 1972。

(condensed state)。在缺乏ADP時，膜具有尋常的結構性質或“膨脹態”(swollen state)，其中線粒體內脊(cristae)投向大的基質。此假說的提議乃假定釋放在電子傳遞中之能量乃移入上述之形態變化中，且此能量豐富凝縮結構轉而用於ATP合成，即轉變為膨脹的，能量貧乏的形態。精密言之，何以在膜之形態中此等轉變能與ADP及ATP之相互轉變偶聯迄未瞭解。

這上述三種假說對實驗提供大量假定。但任何單獨一種均未能提供氧化性磷酸化反應正確的描述。

14-8 加氧酶類 (Oxygenases)

細胞氧化作用能在三種不同方式中發生，迄今我們只討論其中之兩種：

(1) 氫之移出，乃一氫陰離子加一質子(或2質子加2電子)，及(2)電子之移出(在細胞色素中)。第三種重要方式是攫取氧原子。氧酶類是酶的一類催

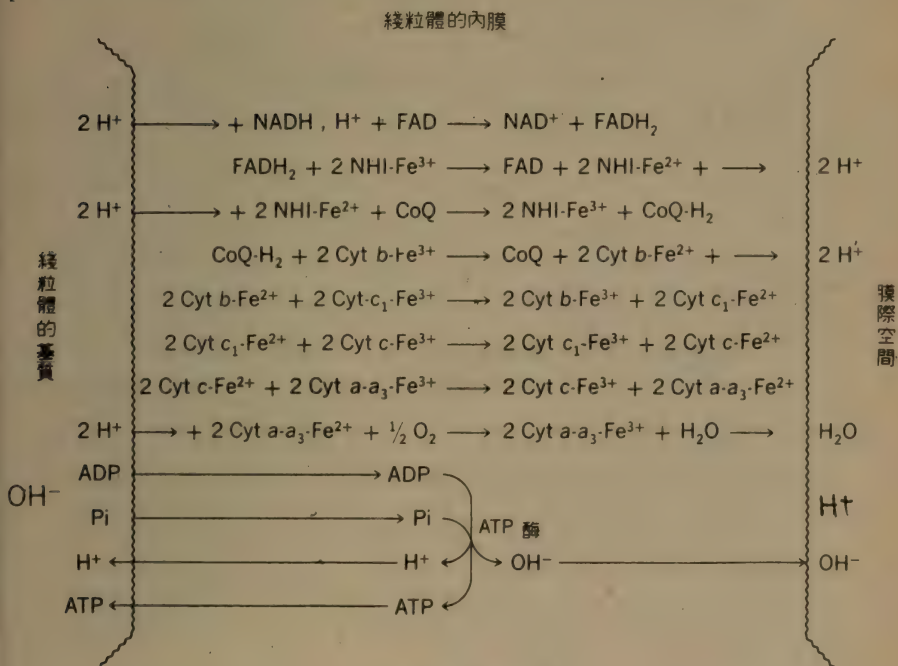
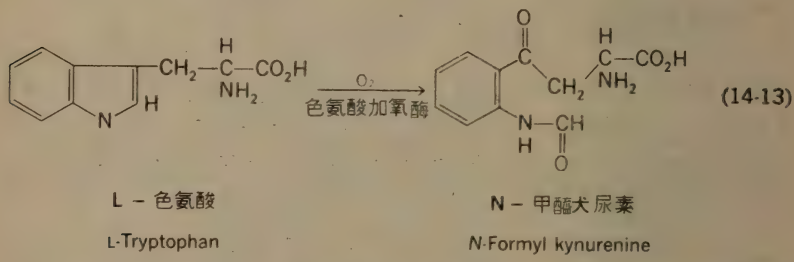


圖14-5

化進入受質中O₂分子之一個或全數原子的嵌入。前者稱“單加氧酶”(monoxygenases)〔羥基化酶(hydroxylases)或混合功能的氧化酶(oxidases)〕, 後者為“雙加氧酶”(dioxygenases)。被氧化的受質可成為更還原性的代謝物質, 諸如膽甾醇, 脂肪酸, 胡蘿蔔素, 以及氨基酸類, 而不是更為還原的碳水化合及有機酸類。此酶類轉而含有鐵或其他金屬; 鐵可能以無機鐵, 正鐵血紅素, 或在非正鐵血紅素鐵硫蛋白質(nonheme iron sulfur protein)。做為典型實例可指出在色氨酸分解代謝中催化第一步驟的雙加氧酶。在此反應中吲哚環被敞開:



另一同等重要的實例是由苯基丙氨酸形成酪氨酸負責的單加氧酶(圖14-6), 在此反應中若干還原劑必須對不再進入受質之氧原子之再還原提供

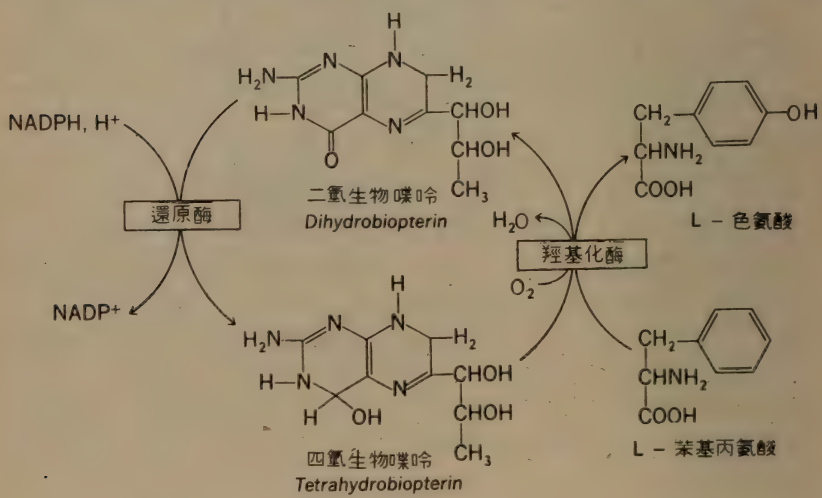
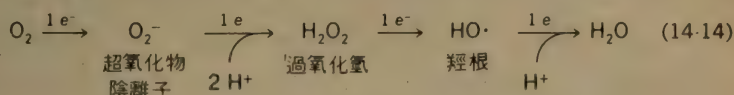


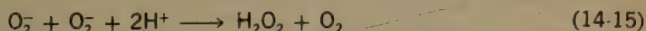
圖14-6 L - 苯基丙氨酸羥基化為L - 色氨酸之反應程序。

兩個電子。還原劑為四氫生物喋呤 (tetrahydrobiopterin)，在氧化為二氫形式時，則被 NADPH 還原。由前二例可見雙加氧酶同時將兩個 O 原子加入被氧化的化合物中，而單加氧酶（羥基化酶）則僅將一個 O 原子加入被氧化的化合物而另一個 O 原子却還原為水。

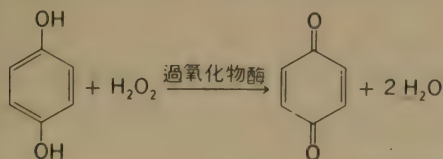
加氧酶（氧化酶）在其活化 O_2 分子及還原氧之兩個原子為 H_2O 中特別有趣味，這一程序需要一共四個電子。中間物的性質及有關之機程如下：



酶，超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase) 催化超氧化物陰離子 (superoxide anion) 之歧化作用又稱不相稱作用 (diproporation) 在所有需氧器官組織中普遍分佈：



這與前述未知功能的蛋白質已稱之為血銅朊 (hemocuprein) 及紅銅朊 (erythrocuprein) 者相同。已設想氧在原始的地球上便已有用，且用做一氧化劑，即方程式 14-14 中所列之非常活潑的中間物，對發展生命形式則為毒物。故此等生命形式必須發展過氧化歧化酶，且與已知之酶，過氧化氫（放氧）酶類 (catalases) 及使用 H_2O 為一受質之過氧化物酶類 (peroxidases) 有關。過氧化氫（放氧）酶幾乎在所有動物細胞中均存在。它催化分解 2 莫耳之 H_2O_2 為 $2H_2O + O_2$ 且因此防止細胞抵抗有毒的 H_2O_2 。過氧化物酶在動物細胞中相當罕見 [除白血球 (leucocytes)，紅血球 (erythrocytes)，肝臟，以及腎臟為例外]。過氧化物酶在所有高等植物中常見。過氧化物酶在 H_2O_2 環境下氧化二羥基酚形成醌及水：



14-9 綫粒體之滲透性 (The Permeability of Mitochondria)

在第九章中已指出綫粒體的內與外膜的滲透性是十分不同的。外膜能完全透過分子量在 10,000 以上的分子，而內膜却大有選擇性。早已陳述丙酮酸能自由進入內膜以行氧化反應，但草醋酸則否。因程序上有此選擇性的結果丙酮酸（或乳酸）在糖質生成中可以可逆的轉變回來成葡萄糖，這是早在 10-7·2 項中已討論了。故，雖然草醋酸在綫粒體中由丙酮酸羧化酶產生，却不能脫離此粒子，蘋果酸却可以，而且綫粒體的及細胞質的蘋果酸脫氫酶均可用於逆轉的糖酵解反應中（見圖 14-7a）。

內膜也不能透過反丁烯二酸，但檸檬酸及異檸檬酸均能進入基質中。已在第九章中指出，載體系統對能進入基質之三羧酸及二羧酸之傳遞負責。在乙醯基-CoA 之出綫粒體之傳遞中檸檬酸的任務已在第 13-10 節討論。在此傳遞中形成 β -氧化反應，且進入細胞質中，在該處又用於脂肪酸之合成。

NAD^+ 及 NADH 不能由基質進入細胞質早已在第 14-5 節中討論。使用 *sn*-3 磷酸甘油穿梭（圖 14-7b），由細胞質的 NADH 還原當量的傳遞至內膜，在該處能參與電子輸送已如前述。蘋果酸，草醋酸，以及天門冬酸與綫粒體的及細胞質的蘋果酸脫氫酶及天門冬酸—草醋酸轉氨基酶在一齊組成另外的還原當量穿梭系統。這一種適與 *sn*-磷酸甘油穿梭成對比能在兩方向中操作，且能傳遞還原當量不是進入便是逸出綫粒體（圖 14-7c）。

ADP 及 ATP 橫越內膜之傳遞問題在 Krebs 循環酶，電子傳遞載體，以及磷酸化反應酶類不是在基質中便是在內膜中的定域觀點上論是一個關鍵之所在。研究顯示 ADP 及 ATP 能穿過膜在此提供的是兩個分子的交換。故，一分子 ADP 能進入基質提供一分子 ATP ，同時脫離綫粒體。這種需要於是在基質中建立一腺嘌呤核苷酸的代謝地帶 (metabolic pool of adenine nucleotide)，這與在細胞質中的地帶不相同。但此二地帶均相互有關，設想在內膜中發生交換程序的。

當描述氨基酸代謝反應時，將見及細胞質的轉氨基作用可解釋傳遞氨基之氮至 α -氧代戊二酸而形成羰氨酸。然後此氨酸能進入綫粒體之基質中，在該處能與草醋酸（由丙酮酸羧基酶形成的）轉氨基再生成 α -氧代戊二酸，且被氧化（圖 14-7d）。故 α -氧代戊二酸之五個碳原子不能直接進入綫粒體，但

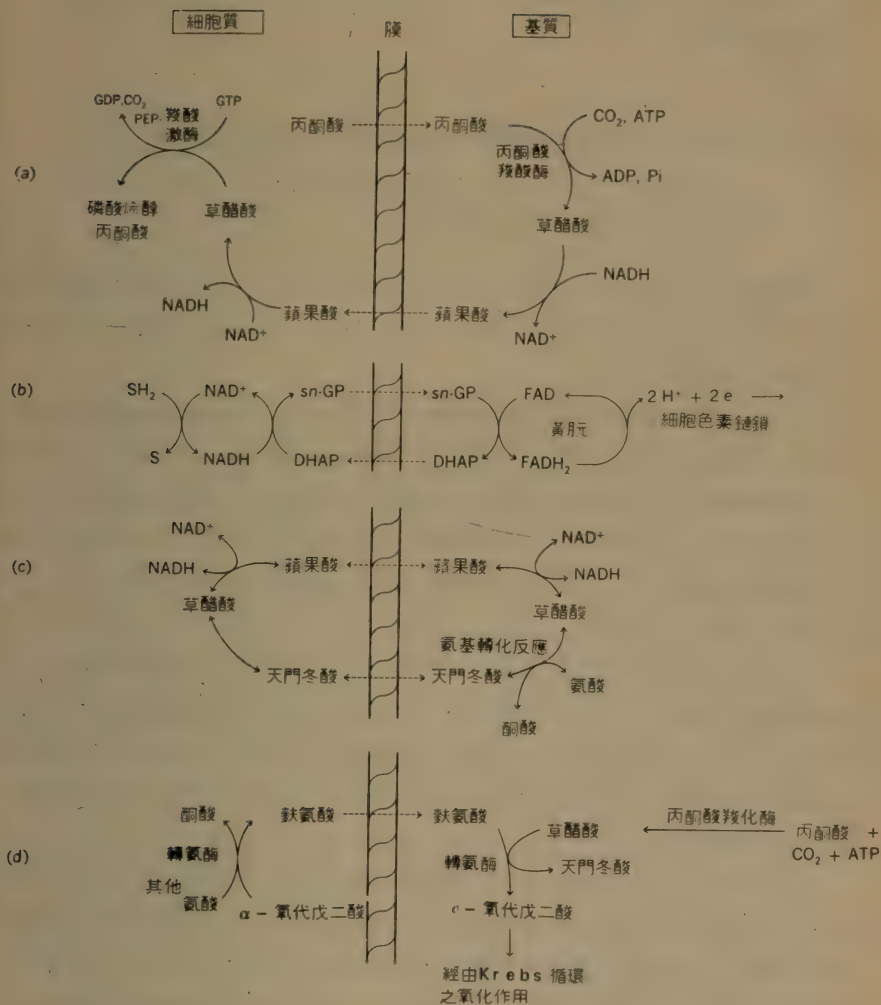


圖14-7 四種穿梭系統實行橫越綫粒體的內膜。(a)系統要求在糖質生成中轉變內酮酸(或乳酸)為磷酸烯醇丙酮酸。(b)單方向的Sn-磷酸甘油(Sn-GP)及二羧乙醯磷酸(DHAP)穿梭只傳遞還原當量進入綫粒體基質中。(c)可逆的蘋果酸—草醋酸—天門冬氨酸穿梭為當量的還原。(d)天門冬氨酸穿梭以傳遞氨基酸。

必須先分別麩氨酸是能自由進入的。此等及其拘束在代謝反應上產生因線粒體的膜之選擇性仍在確定及評價中，但顯呈如此之揭發在調節的代謝反應中有基本的意義。

14-10 碳水化合物，脂類，及氨酸代謝反應的集合 (Integration of Carbohydrate, Lipid and Amino Acid Metabolism)

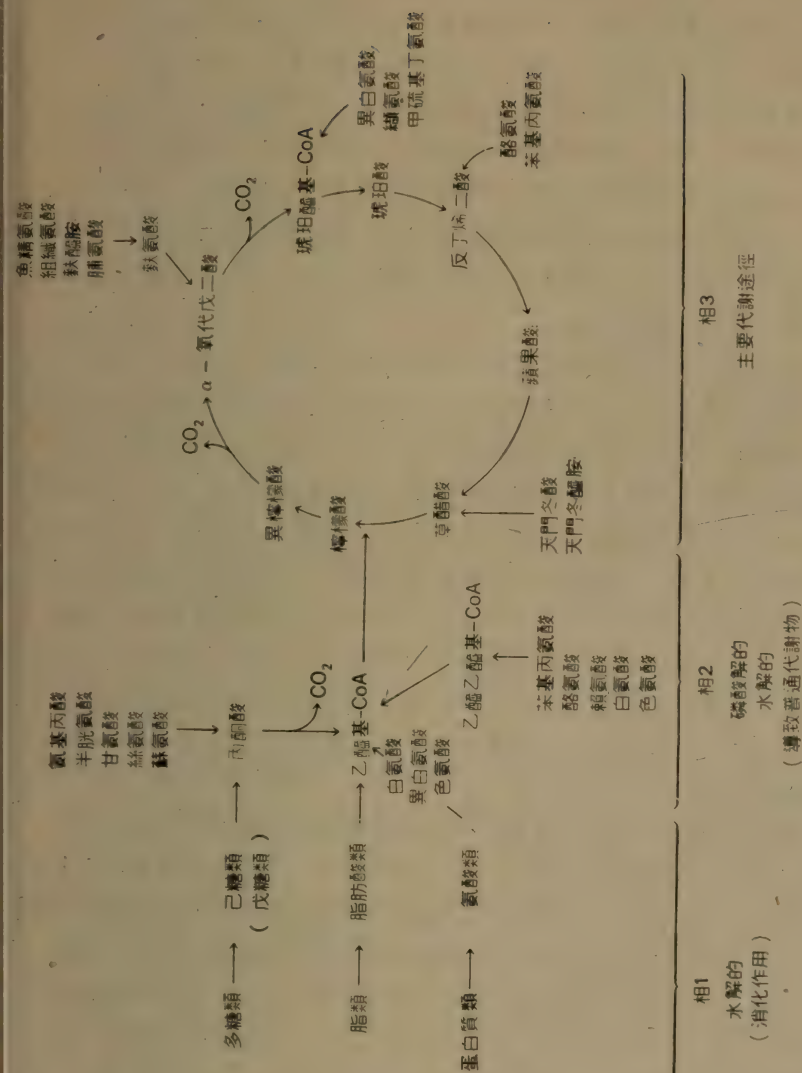
就此點言，集合若干有關由已陳述之碳水化合物，及脂類產生能的資料是有助益的。此外，將期待若干氨酸代謝反應的一般情形，雖然此課題直至第十七章才處理。

Krebs 及 Kornberg 兩氏已指出有許多不同的化合物能約略的分類為碳水化合物，脂類，或蛋白質類，均能做為生命機構的能源。此等學者另外強調有些反應有關由此等化合物所獲得之能量是出奇的小，不論該機構是涉及動物，高等植物，或微生物。故對於掌握此等化合物，自然界已在發展的程序中有很經濟的措施了。此等學者將受質降解 (substrate degradation) 分為三“相”如圖 14-8 所示。

在“相 1”中，多糖類，對許多機構做為一能源，均水解為單糖類，普通是己糖類 (hexoses)。同樣，蛋白質能水解為其成分之氨酸，及三醯基甘油類 (triacylglycerols)，這些造成脂類食物來源之主要部分，均可水解為甘油及脂肪酸。此等程序為水解的，且能量釋出，其反應對機構有價值，因係熱的形式。

在“相 2”中，單糖類甘油，以及脂肪酸均進一步降解為乙醯基-CoA，所用之程序結果形成若干能量豐富的磷酸鹽化合物。即在糖酵解中，己糖轉變為丙酮酸，然後藉形成有限幾種高能磷酸鹽鍵 (如在第十章中所述者) 的反應生成乙醯基-CoA。同樣，在“相 2”中長鏈脂肪酸氧化為乙醯基-CoA (第十三章)，而甘油，由三醯基甘油水解而得的，藉糖酵解程序轉變為丙酮酸及乙醯基-CoA。

對於氨酸類則其情況又多少不同。在“相 2”中若干氨酸 (氨基丙酸，絲氨酸，半胱氨酸) 均降解為丙酮酸，故乙醯基-CoA 形成可預言若此等氨酸均對於能量產生為一器官所使用。其他氨酸 (脯氨酸，組織氨酸，魚精氨酸)



細胞間的

圖14-8 食物分解代謝的主要“相”。

酸)均降解為麩氨酸,此酸再經轉氨基作用而成2-氧代戊二酸,為三羧酸循環中之一員。天門冬酸易於轉氨基而成草醋酸,為另一循環之中間物。氨酸支鏈及賴氨酸等氨酸亦降解而生成乙醯基-CoA或琥珀醯基-CoA。又苯基丙氨酸及酪氨酸在氧化性降解上同時產生乙醯基-CoA及反丁烯二酸。

故氨酸類之碳架構不是生成三羧酸循環中之一中間體便是生成乙醯基-CoA,由碳水化合物或脂質也產生相同產物。在“相3”中此化合物之氧化經循環途徑,藉氧化性磷酸化反應的能量豐富之ATP。尤其,對每莫耳之被氧化之乙醯基CoA生成12條能量豐富之鍵。故對於生物機構能接受的數以百計的有機化合物均可用於藉此循環轉變為乙醯基-CoA或三羧酸循環及其受質氧化作用之一種中間物。

在考慮有關對生命機構成有價值能量的實際步驟中,電子傳遞穿過細胞色素系統時所發生的氧化性磷酸化反應均有定量的深意。即使此處有些反應涉及經濟問題。如在第十二章所討論的,三羧酸循環中受質之氧化反應伴生的不是菸醯胺便是黃素核甙酸的還原反應。在線粒體環境下藉分子氧被還原的核甙酸氧化反應結果形成能量豐富的ATP。已指出由NADH至 O_2 傳遞一對電子過程中會發生三種磷酸化反應。僅討論過其他三種導生能量豐富化合物之反應,這些化合物都是以前並不存在的。有(a)在三糖磷酸氧化反應(第十章)中醯基磷酸之形成(b)磷酸烯醇丙酮酸(第十章)之形成,以及(c)硫酯類(第十二章)之形成。自然這是一個漂亮的設計能使能量在無數食物中納入僅為六種不同的程序中,即使此處一種單純的化合物,ATP也是形成的能量豐富的質。

14-10.1 碳水化合物,脂類,以及蛋白質之相互轉變 (Interconversion of Carbohydrate, Lipid and Protein) 這三種主要食物間之相互轉變可依圖14-9有助於說明如下:此圖中有兩個有效不可逆反應均以單向粗線箭號表示之。(a)碳水化合物可轉變為脂肪透過乙醯基-CoA之形成。(b)碳水化合物也能轉變為某些氨酸(氨基丙酸,天門冬酸,以及麩氨酸)提供一個二羧酸以便形成此等氨酸之同類酮酸。尤其,同時供給草醋酸(或其他 C_4 -二羧酸)及乙醯基-CoA均為被合成氨酸所需要的化學計量之量。對於 C_4 -二羧酸之形成尚有許多反應;主要的一種是由丙酮酸之生成草醋酸,此乃被丙酮酸羧酸酶催化的反應。另一為由丙酮酸形成蘋果酸,乃蘋果酸酶的催化反應。此等反應已在第十及十二章中敘述。(c)脂肪酸可類似的轉變為

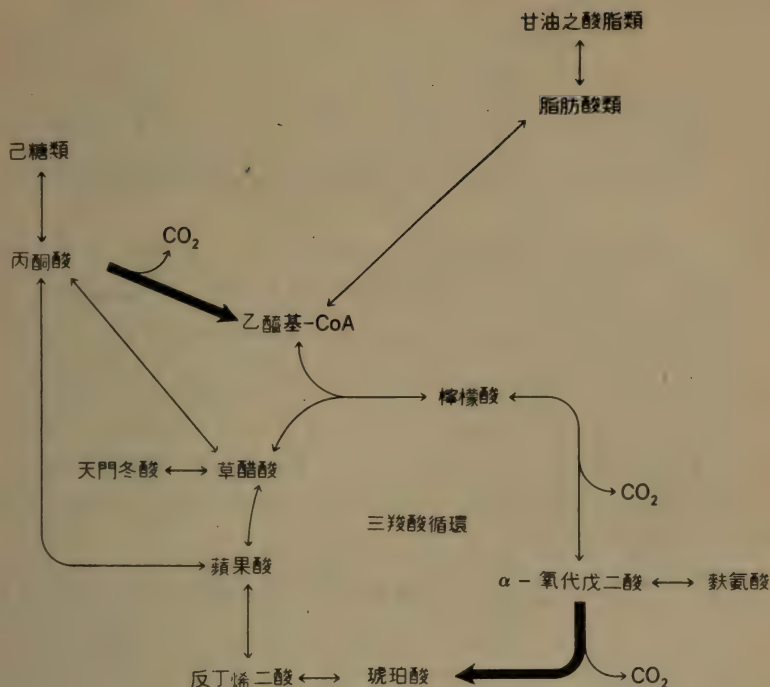


圖14-9 碳水化合物，脂類，以及某些氨酸間之可能的相互轉變。

某些氨酸提供二羧酸來源。(d)脂肪酸不能轉變為碳水化合物，如圖14-9所示之反應。這種不能是歸因於在乙醯基-CoA中所需之二碳原子的當量已因產生了二羧酸之前其 CO_2 已失去了。但注意：乙醯酸循環（glyoxylate cycle）（在第十二章中已討論）能使一機構由脂肪形成碳水化合物，例如在植物，若干細菌，及若干微菌便能如此。(e)天然存在的氨酸可轉變為碳水化合物及脂類。二十幾種蛋白質氨酸之每一種均可分類為生葡萄糖的（glucogenic），生酮的（ketogenic）或二者：生葡萄糖的及生酮的，端視氨酸之特有代謝而定。例如有一例，天門冬酸為生葡萄糖的，透過草醋酸之形成，然後繼續的成為磷酸烯醇丙酮酸。類似的有穀氨酸為生葡萄糖的，由其在三羧酸循環中轉變為草醋酸再由草醋酸轉變為磷酸烯醇丙酮酸。白氨酸之碳架構降解為乙醯乙醯基-CoA，及乙醯基-CoA。故，其為一生酮的氨酸。氨酸之同時為

生葡萄糖的及生酮的例是酪氨酸，苯基丙酸，異白氨酸，及賴氨酸。

14-10.2 在代謝控制中之相互關係 (Interrelationships in Metabolic Control) 在討論已知酶的反應時顯示上述脂類，碳水化合物，以及氨酸之相互轉變是合理的。現在看來此等相互間關係在代謝的調節領域中也一樣存在的。若干如下之控制程序已在他處討論，此處則再強調調節之相互關係。

茲檢討一細胞或組織在其中能量充給值接近 1.0。高濃度 ATP 及低程度 AMP 的結果，將因檸檬酸合成酶及異檸檬酸脫氫酶之活性降低而減弱三羧酸循環之活性。在第 12-4.3 項中指出由氧化性磷酸化作用中產生 ATP 將立刻減少。同時檸檬酸却能積聚。因此酸已知會增加乙醯基-CoA 羧酸酶活性，此酶在乙醯基-CoA 轉變為脂肪酸中第一步驟上催化（見第十三章），細胞能延遲由葡萄糖之產生乙醯基-CoA，由能量之產生進而將脂肪儲存。當 ATP 使用結果是在脂肪酸合成中，相當於 AMP 產生之增大應是降低檸檬酸濃度及能合成脂肪酸趨於完全。

在控制中可能的相互關係也能在糖酵解的反應中逆轉。故，在“能量飽和”（energy-saturated）名稱下的細胞討論之，AMP 之低程度（及 ATP 之高程度）將在葡萄糖的降解中減低，因此等核甙酸之作用在磷酸果糖激酶及 1,6-二磷酸果糖磷酸酶上。

第二種控制能希望歸因於 ADP 之低濃度及無機磷酸之在酶類，3-磷酸甘油醛脫氫酶，磷酸甘油激酶，以及丙酮酸激酶上。所需要的不是無機磷酸便是 ADP，此等酶類必須對於有價值的有限量的 ADP 及無機磷酸競爭，設想未達最大反應率。最後，低 AMP 濃度使糖原磷酸化酶的作用遲緩，因 AMP 是此酶之正因子。6-磷酸-果糖及先質，6-磷酸-葡萄糖應集聚，且後者酯之作用，為 UDPG-糖原葡萄糖基轉基酶（UDPG-glycogen glucosyl transferase）之正因子，應刺激多糖之形成。當 ATP 之濃度降低（及 AMP 濃度增高）時，再度看見，葡萄糖之糖酵解的降解應增大且丙酮酸鹽之氧化作用透過三羧酸循環應提供一重新補給的 ATP。

應着重並非所有控制機程如上述或在本章之其他處所所述的都是證明組織的單純型式。故不含糊的證明所有此等控制實際上沒有在一單純組織上作用的。無論如何，並無不足之證據說完整的生命組織機構具有令人驚嘆的本領來調節其代謝作用。只有由更深入的實驗來充實這方面的知識了。

參考文獻

1. E. Racker, "The Two Faces of the Inner Mitochondrial Membrane," *Essays in Biochemistry*. 6 1-22 (1970).

有關線粒體膜之結構、功能關係是一篇必須讀的文章。

2. A. L. Lehninger, *The Mitochondrion: Molecular Basis of Structure and Function*. New York: Benjamin, 1964.
P. M. Mitchell, *Chemiosmotic Coupling and Energy Transduction*. Glynn Res. Ltd., Bodmin, U.K., 1968.
E. Racker, *Mechanisms in Bioenergetics*. New York: Academic Press, 1965.

是三本有關線粒體及氧化性磷酸化反應詳情的專論，為這方面的知名學者所撰寫。

3. F. M. Harold "Conservation and Transformation of Energy by Bacterial Membranes," *Bacteriological Reviews* 36, 172 (1972).

是在刊載這方面近來進步情形的廣泛雜誌。

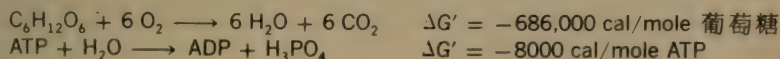
4. H. A. Krebs and H. L. Kornberg, *Energy Transformation in Living Matter, A Survey*. Berlin: Springer, 1957.

有關碳水化合物，脂質，及蛋白質間的關係的優良摘要書籍，且強調能量的轉變情形。

5. E. Racker, "Oxidative Phosphorylation," in *Molecular Oxygen in Biology*, O. Hayaishi, ed., New York: American Elsevier, 1974.

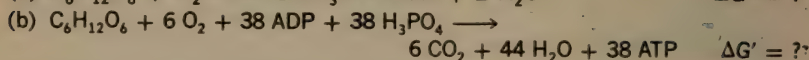
習題

1. 如下各反應已知其自由能約略值為：

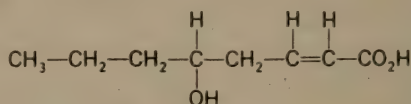


假定每莫耳丙酮酸 ($\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$) 氧化為 CO_2 及 H_2O 經由 Krebs 循環，且發生 40% 的效率，能形成 15 條高能磷酸鹽鍵。求計如下兩反應

之 $\Delta G'$:



2. 羧基脂肪酸示明如下之完全氧化為 CO_2 及 H_2O 乃依 β -氧化程序及Krebs循環進行的。求計將產生的淨ATP莫耳數。

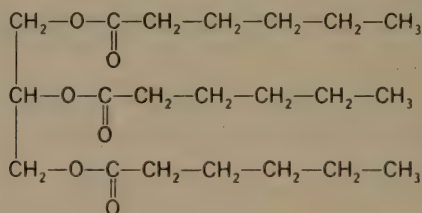


3. 能量之產能乃ATP在小心控制一動物用葡萄糖為其能源且燃燒此化合物為 CO_2 及 H_2O 經由糖酵及Krebs循環者。

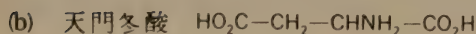
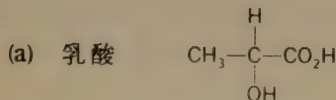
(a) 鑑別四種酶類（或酶反應），在ATP：AMP之比率增大且說明如何影響的。

(b) 何種酶（或酶反應）尤為有影響？在NADH：NAD⁺之比率高時？

4. 當三己精（tricaproin）完全氧化為 CO_2 及 H_2O 時，求計應產生之能量豐富磷酸鹽之淨莫耳數



5. 如下化合物被熟知反應完全氧化為 CO_2 及 H_2O 。在每種化合物被氧化假定能量豐富磷酸鹽都是發生這種反應的，求計能量豐富磷酸鹽之鍵數。



第十五章

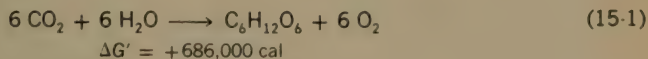
光合成

Photosynthesis

目標 光合成 (photosynthesis) 的生物化學的性能，其在地球上所有生命有關的基本程序將在本章中討論。討論的方式是日光的能量轉變為化學能 (chemical energy)。然後用此化學能的反應來同化二氧化碳進入所與之有機化合物中。強調一事實即大多數有關的反應在第十章及第十一章中早已講過，而且現在只有兩種新反應是有關的。在同化程序中的變化由若干重要農作植物呈示，也像還原性羧酸化反應循環之由若干光合成的細菌所實行一樣。最後再描述光呼吸的現象 (phenomenon of photorespiration)。

15-1 引言 (Introduction)

在此星球 (地球) 上所有的生命均與“光合成”有關，此程序乃將 CO_2 轉變為有機化合物，發現不僅在光合成的器官中，而且也在所有生命細胞內。例如由 CO_2 及 H_2O 轉變為葡萄糖可表示為反應 14-7 之逆轉，且需要輸入一小量之葡萄糖，氧化之為 CO_2 及 H_2O 時所放出之相同量的熱能。



這項光合成暗示此程序之能乃由光供應的。

糖酵解及戊糖磷酸代謝作用進化後，接着是光合成進化。但直至色料諸如葉綠素能形成了才能發生的。此等色料具有吸收太陽輻射線的能力，再傳遞若干能量進入化學形式 (ATP)。故涉及“光磷酸化反應 (photophosphorylation)”的程序。

當 CO_2 量積聚成有效之量時，便成為光合成的受質，因光磷酸化反應及戊糖磷酸代謝反應結合乃生成一種有關光的 CO_2 還原作用。對於 CO_2 之還原

作用藉 H_2S 及 H_2 供給電子， H_2S 及 H_2 都是原始大氣中的成分；某些光合成細菌至今仍存在證明是光合成的早期形式。因光合成之機構繼續進化，乃獲得以 H_2O 為電子源的本領。當此發生的 O_2 產生時，於是進化的形式對於呼吸作用，前所未知的需氧的呼吸作用，又提供了新的氧化劑。

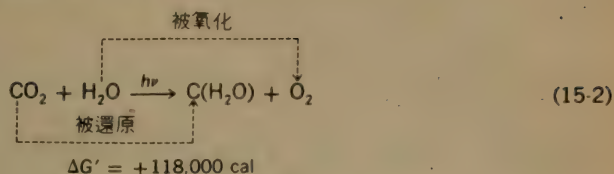
15-2 光合成的早期研究 (Early Studies on Photosynthesis)

15-2.1 明亮與黑暗反應 (Light and Dark Reactions) 在1905年最起始的研究，Blackman 氏昭示光合成由兩種程序組成：一為“依賴光之相”(light-dependent phase)乃限制在“不依賴光”(light-independent)或“黑暗反應”之反應率中。依賴光之程序呈示光化學反應之不依賴濕度的特性。而黑暗反應則對不同濕度敏感。現今，已知之依賴光程序乃是在其中能量轉變為化學能，實際上是ATP及NADPH。另一方面，黑暗反應寧以酶的反應將 CO_2 引入還原的碳水化合物中。(即前在碳水化合物代謝作用中提到的。)

在1930年Robert Emerson 氏首次提出證據昭示光合成的“依賴光之相”至少由兩種光反應組成的。當Emerson 氏測出由綠藻 (green algae) *Scenedesmus*，實行的光合成量時，察見為光之波長的函數，光合成在光波長大於700nm者，則不起反應。這是令人驚奇的，因這是遠紅波長 (far red wavelength) 的光一直被綠藻細胞吸收的。Emerson 氏繼續昭示，在遠-紅區域中此種降落——所謂“遠-紅降落”(far red drop)——落在700nm光線補充第二種波長為650nm光源的光線，則能反而增大其量。這種光合成量的增長使Emerson 氏假定在 *Scenedesmus* 的場合中，在光合成 CO_2 之同化時需要兩種不同的波長的光。現今的說法是此等要求是假定乃這些及其他光合成機構有兩種光系統 (PS I 及 PS II) 分別由遠紅波長 (680-700 nm) 及較短波長 (650nm) 之光所活化。

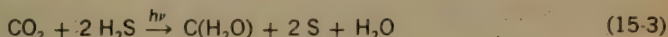
15-2.2 細菌的光合成 (Bacterial Photosynthesis) 研究光合成的細菌提供許多有用的資料，且多年來刺激光合成研究的主要假設均奠基於此。有兩種紫菌 (purple bacteria) 硫族的及非硫族的，已廣為使用。在此等有機體中比較光合成之程序寫出光合成之全反應是基於1莫耳 CO_2 在綠色

植物上作的實驗。可將反應 15-1 以 6 除之。

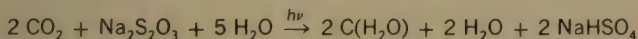


更要注意這是一種氧化-還原反應，其中氧化劑為 CO_2 被還原至 $\text{C}(\text{H}_2\text{O})$ 程度之碳水化合物。在此反應中之還原劑為 H_2O ，乃轉而被氧化為 O_2 。因這反應是高度吸收能量的，只有在由光 ($h\nu$) 供應必需之能量時才能起反應。

紫硫細菌，即核染質細菌 (chromatium)，在光合成中：用 H_2S ，而非 H_2O 做為還原劑。元素質硫， S ，乃生成，而非 O_2 ：

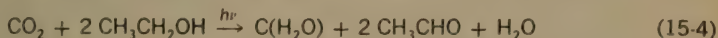


注意需要 2 莫耳 H_2S 平衡此方程式， S^{2-} 離子在 H_2S 提供總計四個電子以還原 CO_2 為 $\text{C}(\text{H}_2\text{O})$ 。硫代硫酸鹽也能對光合作用藉紫硫細菌而為還原劑：



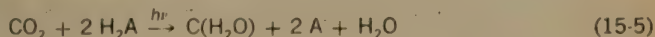
此反應證明還原劑不必含氫本身，但須單純能供給電子可矣。

非硫紫細菌 (即 *Rhodospirillum rubrum*)，使用有機化合物諸如乙醇，異丙醇，或琥珀酸為電子供應者。例如均衡方程式用乙醇者可書為：



還原 CO_2 要四個電子，便由 2 莫耳之乙醇氧化為乙醛而供應之。

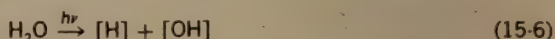
C. B. van Niel 氏曾指出類似此等反應之一為在綠色植物中發生的，而且他設想光合成之一般反應可表示為：



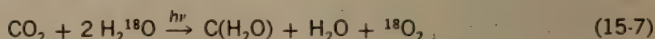
此處 H_2A 為還原劑之一般表示法，已見可能是多種化合物。

因 H_2S 是比 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 或 H_2O 為更強的還原劑，可望對光合成所需之還原劑可用較 H_2S 為弱的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 或 H_2O 。但是實驗地知道需要同量的光能，而無視外在還原劑之性質。這使 van Niel 氏假定原始反應在所有有機體中均是

相同的，且一分子之 H_2O 分裂一個還原劑 $[\text{H}]$ 及一個氧化劑 $[\text{OH}]$ 是併存的

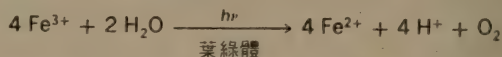


此假說刺激許多試驗工作，導致更大的瞭解光合成程序。具體的需以四個電子還原 CO_2 為 $\text{C}(\text{H}_2\text{O})$ ，意即方程式 15-2 必須寫出 2 莫耳之 H_2O 為還原劑， H_2O 中每個氧原子提供 2 個電子：

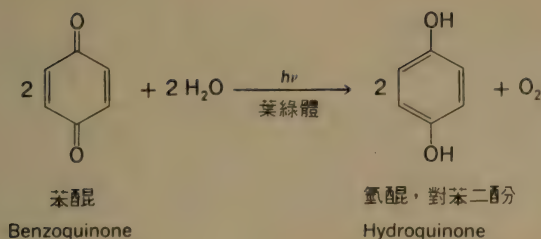


再者，此修正方程式應指示在綠色植物光合成中產生的兩個氧原子應只是來自 H_2O 。此事已由 Ruben 及 Kamen 兩氏在一古典實驗中實驗地證實了，此實驗中 H_2O 以同位素 ^{18}O 為標識物，在綠藻之光合成中使用之。在此等條件下產生的氧所含 ^{18}O 之濃度與 H_2^{18}O 者相同。以後的有關研究光合成中 H_2O 之任務的發展，使之必需放棄光分裂 H_2O 之 van Niel 的假設。但其假設是起始的光合作用涉及一還原劑及一氧化劑之產生仍在能量轉變程序流行的說法中保存之。

15-2.3 Hill 反應 (The Hill Reaction) 在 1937 年，劍橋大學的 Robin Hill 氏起初研究無細胞的光合作用用單離出來的葉綠素而不是整體植物。他推斷若含有葉綠素的粒狀結構 (grana) 或葉綠體 (chloroplast) 能由細胞中分別加以研究，則可能獲得更多資料。且有一理想即葉綠體能同時負起 H_2O 之氧化及 CO_2 之還原責任而成為有機碳化物。但並非在此時完成。無論如何葉綠體在適當氧化劑草酸鉀高鐵鹽環境下能發生光分解而產生 O_2 。在此反應中水之光氧化過程內高鐵離子取代 CO_2 為一種氧化劑：

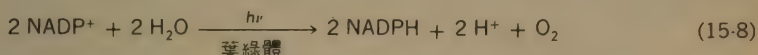


放出之分子氧在化學計量上是所加氧化劑的當量之量。此觀察是基本重要的，可以在光合成中研究還原劑， H_2O 之任務。此反應稱為 Hill 反應而草酸鉀高鐵鹽 (potassium ferric oxalate) 稱為 Hill 試劑。其他化合物也在單離的葉綠體上研究時做為 Hill 試劑，Warburg 氏謂苯醌也具如此功能：



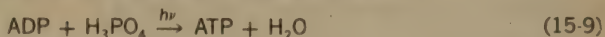
這種被氧化的染料最後被還原時呈現 Hill 試劑的功能。雖然這途徑是可批評的，因此質雖能做為 Hill 試劑，但並非生理學上的重要化合物，此等反應的性質已廣泛研究了。

在1952年，三處美國研究所報導 NADP^+ (及 NAD^+) 可在菠菜之粒狀結構及光的環境下做為 Hill 試劑。用完整的葉綠體， NADP^+ 被優先還原。故為第一次有一種生理重要性的化合物能有 Hill 試劑的功能。這觀察是基本的，它構成一機程由此產生還原的菸醯胺核甙酸即為依賴光的反應成果：

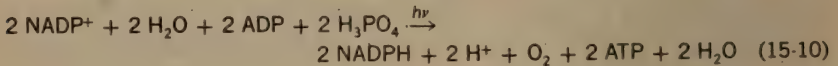


早在本書中已有許多實例，在適當酶環境下 NADPH 及 NADH 能還原各種受質。

15-2.4 光磷酸化作用 (Photophosphorylation) 在1952年，已知 NADPH 及 ATP 均在光合成中為轉變 CO_2 成碳水化合物所必需的化合物。經由 Hill 反應已得 NADPH ，可想像被還原的菸醯胺核甙酸透過植物線粒體之細胞色素電子傳遞系統被氧再氧化應產生 ATP 。在完整的含有葉綠體及線粒體的植物細胞中，所有此等細胞器應涉及產生兩種輔酶 NADPH 及 ATP ，這是推動光合成的碳還原循環 (圖 15-4) 所需要的。在1954年，Arnon 氏及其同工以特殊技術分離的單獨的葉綠體，發現能在光中將 CO_2 轉變為碳水化合物，所以他們懷疑是否 ATP 是如此產生的。在 Arnon 研究室更深入研究顯示葉綠體在沒有線粒體時，也能在兩種依賴光的磷酸化反應中合成 ATP 。第一種形式是“環狀的光磷酸化反應” (cyclic photophosphorylation) 僅產生 ATP ，且在任何外來的電子給予者或接受者不產生淨的變化。



第二種形式是“非環狀的光磷酸化反應”(noncyclic photophosphorylation) 涉及一反應為ATP形成是與一“光-推動傳遞的電子”(light-driven transfer of electron)〔由水至一終點電子接受者(terminal electron acceptor)諸如 NADP^+ 結果則得氧〕所偶聯的：



此反應值得介紹還有兩種理由：第一，注意電子的移動應呈示與線粒體之電子傳遞系統方向為逆向的相反方向。最後，電子流由 NADH ($E'_0 = -0.32$) 至 O_2 ($E'_0 = 0.80$) 沿一電位差放出能量，其中若干量則變為ATP的方式。依據反應 15-10 電子由 H_2O 之氧原子中升起使之至 NADP^+ ，且還原為 NADPH 。此種電子移動抵抗電位差，顯然需能量，這是在光合成中光的函數。第二，反應 15-10 更須注意的是電子看似由 H_2O 至 NADP^+ ，能量也像ATP一樣的有價值。此等觀察將在陳述了光合成器官及光合成之光化學後再行說明。

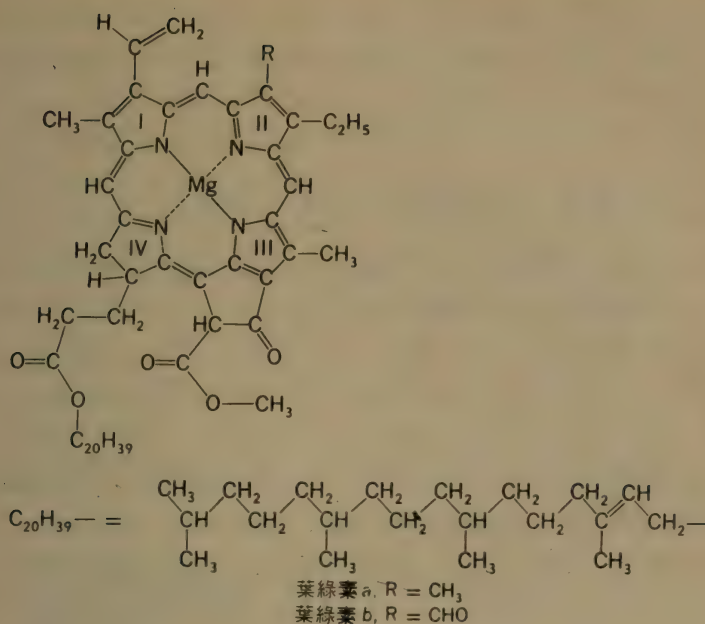
15-3 光合成的器官 (The Photosynthetic Apparatus)

准核的及真核的細胞均可發生光合成。准核質包括藍綠藻，及紫與綠細菌；在此等有機體中光捕集發生在小結構所謂“載色體”(chromatophore, 又稱色素細胞)中。在真核的有機體中光合成體〔高級植物，多細胞紅(multicellular red)，綠及棕色藻類，雙鞭甲藻(dinoflagellates)，及硅藻類(diatoms)〕。葉綠體是光合成程序的部位。

葉綠體，在第9-7章中已陳述其結構及成分，含有光合成的色料；這些是葉綠素 a 及 b ，在高等植物中與某些胡蘿蔔素相結合，其中之一種便是 β -胡蘿蔔素。(第3-10節)

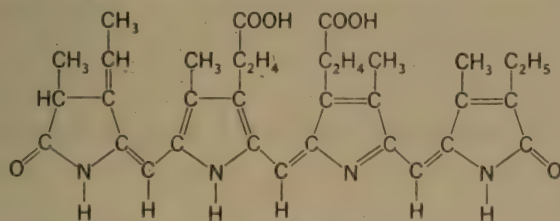
葉綠素為含鎂的樸啉，具有一個脂肪族的醇，植醇(phytol)在一個四吡咯之環IV上與丙酸殘基成酯。對於葉綠素 a 及 b 的結構在此寫出。紅及綠藍藻中除葉綠素 a 外含有藍或紅的色料稱為藻青色，四吡咯與葉綠素有關係，但缺少 Mg^{2+} 及此等化合物之“環狀”結構。

然而光合的有機體含有各種光合的色料，其間之區別乃在光合作用中行



使原始任務及完成第二功能。只有葉綠素 *a*（或在光合細菌中發現的一型細菌的葉綠素）受程序之刺激及螢光的特性，乃將光能轉變為能量豐富的化學化合物。其他色料却不能直接參與此種能量轉變程序，但能集合光（短波長而較高能的）且穿過沿此至葉綠素 *a* 所藉之程序現在仍不清楚。

光合色料與必需之酶類及結構成分結合則組成光合單位均在葉綠體的層片中。此等單位含不同成分之能量轉變系統其比例是確定的。一單純的單位含有 400 個葉綠素 *a* 分子，稱為 P-700 及葉綠素 *a*-682 的特殊型的葉綠素各



一分子；細胞色素 *f* 及質體青 (plastocyanin) 各一分子；細胞色素 *b₆* 及細胞色素 *b₃* 各 2 分子。此等不同成分各司其職，在詳述能量轉變程序時再介紹。

15-4 光之性質 (Properties of Light)

研究輻射能已揭露光可以一種稱為光子 (photon) 之粒子之波說明之。此等光子之能量可由如下方程式求計之：

$$E = Nh\nu = \frac{Nhc}{\lambda}$$

此處 *E* 為 1 莫耳光子或 1 “ Einstein ” 之能量 (以卡計) ； *N* 為 Avogadro 數 (6.023×10^{23} 個) ； *h* 為 Planck 常數 (1.58×10^{-34} cal-sec) ； *c* 為光速 (3×10^{10} cm) ；及 λ 的波長 (以毫微米， 10^{-9} m， nanometer 計) 。此方程式指示光子之能量為該粒子波長之反比。故短波長之藍光能量大於較長波長之紅光相對應量之能量。表 15-1 列出不同型之光的 Einstein (6.023×10^{23} 個光子) 能量。

表 15-1 不同波長之光的能量

光之顏色	波長 (nm)	能量 (cal/Einstein)
遠紅	750	38,000
紅	650	43,000
黃	590	48,000
藍	490	58,000
紫外	395	72,000

物質最重要性質之一是能吸收光。簡言之，一物質之能吸收光是與其原子的結構有關的。在一安定的原子內核外圍繞的電子數等於核中之正電荷數 (原子序) 。此等電子在不同的軌域 (orbital) 內繞核旋轉，而在較外的軌域內的電子其與核之吸引力亦較弱。與核相距更遠的其他軌域也能被此等電子所占據，但需要能量安置電子在此等外軌域中，即未占據的軌域中，因

涉及移動一負電荷更遠離荷正電的核。

有一方法該電子能攝取此能量，且運動至較外或較高之軌域便是吸收光的一個光子。當此事發生時即謂原子在一受激狀態。有許多可能的受激狀態是一所與分子能達成的；達到某一程度端視所吸收之光的量子之波長（故亦即能量）而定。

一原子在一受激狀態中是不安定的；故有由較外軌域回至較內之低能階的趨勢。這種回返是依階段進行的，而伴生釋出之若干能量即在受激作用中所攝取者。起始作用是由激態回返至一較低能階（轉變能階 *transitional level*）伴生的程序是產生熱。當電子回返至其原來的或基態（*ground state*），刺激能之剩餘部分以一種稱為螢光（*fluorescence*）及磷光（*phosphorescence*）的光形式放射出來。螢光是立即放射的（ $\approx 10^{-8}$ sec.），而磷光是延緩地放出吸收輻射線。

15-5 被葉綠素吸收的光（Absorption of Light Chlorophyll）

葉綠素 *a* 吸收可見光譜中藍色及紅色的區域的光效能相同。因藍光之能含量（表 15-1）比紅光的更大 50%，可望前者在光合中更有效。但並非如此，可由葉綠素 *a* 分子之受刺激過程中要達到此能階來解釋。

藍色光足夠刺激葉綠素 *a* 分子之第二單重態（*singlet state*）（60 kcal），見圖 15-1。此態之生命期估計僅 10^{-11} 秒，用於光合成則太短了不能應用。故熱損失了達到第一單重態，具 40 kcal 能階也能吸收紅色光達到此能階。此態之生命期也非常短促（ 10^{-9} 秒）且發生熱而形成介穩的三重態（*meta-stable triplet state*）。此轉變階段之生命期很長（ 10^{-2} 秒），足以刺激葉綠素 *a* 分子來傳遞若干其能量至其他分子。這樣做的情形是第一步驟，將光能轉變為光合成中之化學能。另一途徑三重態藉熱的損失或磷光至基態而蛻變，沒有能量可被捕集了。

15-6 能量轉變程序（The Energy-Conversion Process）

就此點，介紹能量-轉變的圖解或“Z-圖解”是有用的，這是 Hill 及

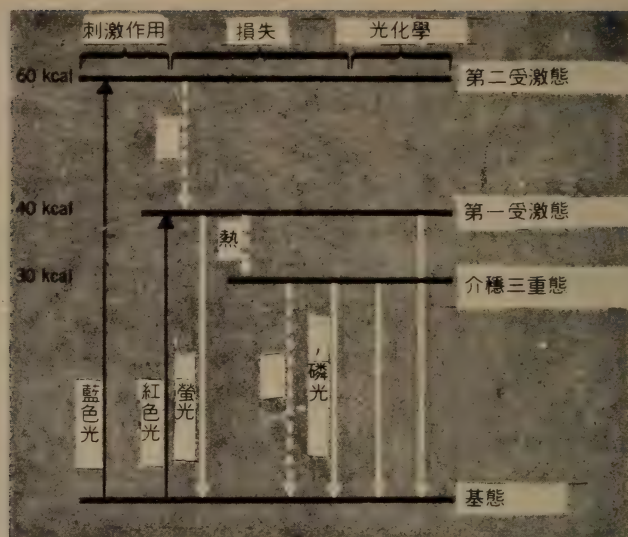


圖 5-1 葉綠素分子之能態。每一水平線條代表一不同能態。在基態以上的各態均為不安定的態，且依熱的分散，螢光，磷光或傳遞能量進入光合成的有機體中等等方式將能量損耗之。根據圖3-2中“光合成，光呼吸及植物生產力”，J. Zelitch, Academic Press, N. Y. (1971)。

及 Bendall 兩氏首先提出及以後其他研究家廣續修正的。

在綠色植物（及任何其他有機體用 H_2O 為還原劑的）中，光合成單位均含有兩種光系統，PS I，及 PS II，乃分別為遠紅（680-700nm）及亮紅（650nm）兩種光線所活化的。在基本單位中葉綠素 *a* 之 400 個分子約略可分為相等的兩系統，被葉綠素或被附屬的色素吸收的光能，再傳遞給在 PS I 中之此等葉綠素，轉而傳遞至一特殊形式的葉綠素 *a* 稱為 P-700。在氧化反應上，P-700 付出一個電子給一個接受者 Z，產生一強力的還原劑（ Z^- ）能還原“鐵還原氧化體”（ferredoxin）及 $NADP^+$ 。此電子缺乏的 P-700（ $P-700^+$ ）藉接受由質體青而來之電子恢復其還原態。一類似的捕集程序在 PS II 中發生，在該處另一特殊葉綠素 *a*（Chl a_{682} ）被刺激。在刺激作用上，

一個電子傳至Q形成 Q^- 。受激之Chl a_{682} 接受一個由Y而來之電子形成一強力的氧化劑 Y^+ 。

Hill-Bandall 圖解的基本性質是電子流由PS II至PS I，經由一個電子傳遞圖解，此圖解是在葉綠體中發生的氧化-還原載體組成的。再者，一電子流沿此鏈鎖由PS II至PS I，Hill 及 Bandall 二氏假定至少產生一個ATP形式的能量豐富的磷酸鹽。各種載體之安置在鏈鎖上是基於各個還原電位，

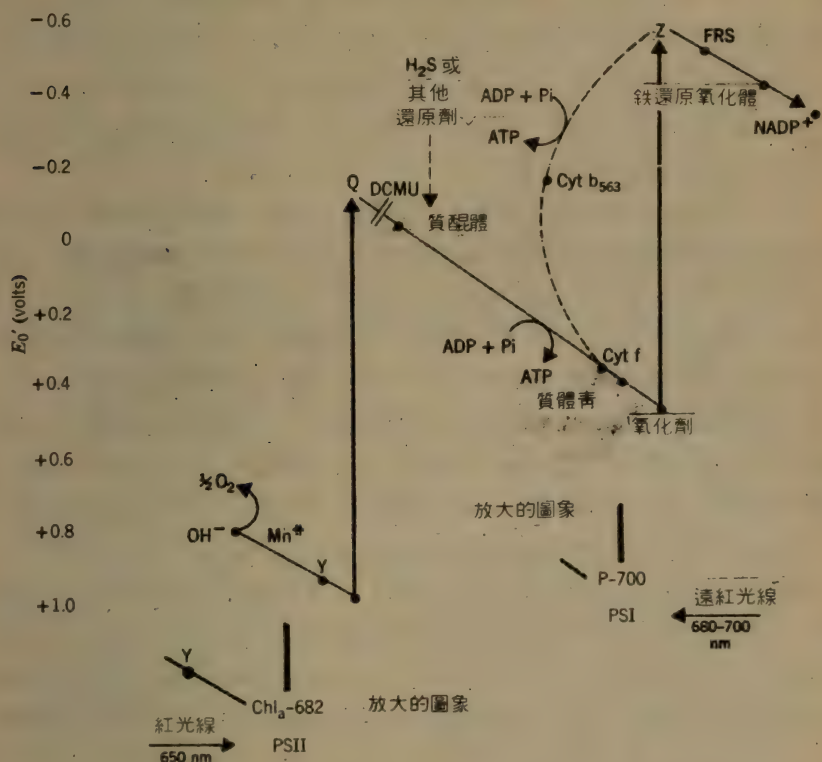


圖15-2 光合成之能量轉變程序依據 R. Hill及 F. Bendall 建議的原始圖解。

就像在紅光（對於 PS II 活化作用）及遠紅光（對於 PS I 活化作用）中所起的特殊變化是一樣的。

著重載體在此鏈鎖上的資料是有價值的。細胞色素 *f*（由拉丁字，frons，葉而來）為一 *c* 型細胞色素；其 E'_0 為 $+0.36V$ 。且具一最大吸收在 $553nm$ 處。質體青是一種藍色含銅的蛋白質承受“一個電子”的還原作用；其 E'_0 約為 0.37 。質體醌，結構與普醌類似（第 14-2.4 項），具一 E'_0 約為 $0.00V$ 。Q 之性質，在 PS II 被活化時所產生弱還原劑。起初知道它是由於它能將被照射 PS II 所產生的螢光滅熄。近來工作仍假定在此滅熄現象中有其他成分（C-550）。Z，是由 PS I 所產生的強力還原劑（ $E'_0 = -0.60$ ）性質，尚未清晰；可能是鐵還原氧化體的膜束合形式。比照射 PS I 產生之弱氧化劑或者是電子缺乏的 P-700（ $E'_0 = 0.42V$ ）。

由 PS II 產生的強力氧化劑 Y^+ ，性質還不清楚，機程之詳情乃此氧化劑氧化 H_2O （更喜歡羥離子 OH^- ）也還不清楚。但知 Mn^{++} 離子是此程序之基本重要物。更知此程序中還原劑 Z 伴生 $NADP^+$ 之還原反應。當 PS I 活化時，一質——鐵還原氧化體-還原質（FRS）——被還原。此化合物傳遞其電子至非正鐵血紅素鐵蛋白質（nonheme iron protein）稱為鐵還原氧化體（ferredoxin）（ $E'_0 = -0.42V$ ）。被還原時，此蛋白質能轉而在含黃素酶，鐵還原氧化體-NADP⁺還原酶（ferredoxin-NADP⁺ reductase）環境下，還原 $NADP^+$ 。故又見電子流是由較低電位之化合物（FRS）至較高電位之化合物（ $NADP^+$ ）沿其電位梯度而進行。

蛋白質鐵還原氧化體（第 14-2.3 項）已由大量光合成有機體——細菌，藻類，高級植物——中分離出來。但是被 Carnahan 及 Mortenson 兩人研究糖桿菌（clostridium pasteurianum）中固定氮時發現的。由此有機體得到的鐵還原氧化體其每分子之蛋白質中含有七個鐵原子，及每莫耳此蛋白質中含有七個硫化物原子團。分子量為 6000，及一堪注意的低還原氧化電位在 pH 7.55 時為 $-0.42V$ 。由菠菜葉綠體中分離出來的此質含有兩個鐵原子聯接兩個特殊的硫原子，在酸性時則釋出 H_2S 。在菠菜中，某分子量為 11,600，還-氧電位為 $-0.43V$ 。被氧化的鐵還原氧化體具特性吸收光帶 420 及 463 nm。當酸化時，此等光譜帶即消失不見，且此蛋白質亦失去生化的活性。

在支持此 Z-圖解及聯接兩個光系統之電子傳遞鏈鎖中有許多證據。此外，Z-圖解能說明細菌及綠色植物光合中能量轉變程序的多種景象。在澳洲，

Boardman 氏斷裂葉綠體，且得部分物質對於實行不是 H_2O 之氧化 (PS II) 便是 $NADP^+$ 之還原 (PS I) 的能力均增大了，只要適當的補充合宜的電子接受物或給予物。於是也能在葉綠體用較長波長的光照射時 (即活化 PS I 的一類)，則產生之氧化劑接受由細胞色素 f 及質體青而來的電子，且被氧化則形成在質體 (plastid 又稱粒線體注意不是線粒體) 中占優勢的此等色料。當較短的波長光活化 PS II，還原劑 Q 饋送電子至鏈鎖中導致 PS I，且所有載體包括細胞色素 f 均變為被還原的了。

除莠劑 (herbicide) 雙氧苯基二甲基脲 (dichlorophenyl dimethyl urea) DCMU 呈現其作用為一殺草劑即藉封鎖沿電子鏈鎖之電子流，如圖 15-2 中所示。有 DCMU 時，葉綠體在遠紅光線中將氧化在鏈鎖中之載體 (PS I)，但用較短波長的光 (PS II) 則此載體不被還原。

15-7 非環狀磷酸化作用 (Noncyclic Phosphorylation)

在非環化磷酸化作用中電子流能以能量轉變程序的方式提出加以陳述。

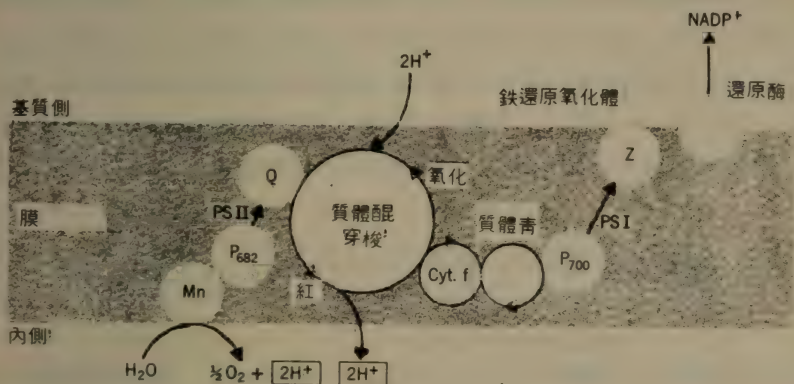


圖 15-3 在一交錯穿過中由水至 $NADP^+$ 光合電子流。質體醌穿梭表示質體醌交互還原及氧化的情形。依據 A. Trebst Ann. Rev. Plant Physiology 25.423 (1974) 中之圖 5。

依據反應 15-10 所產生之 ATP 及 NADPH 乃因 H_2O 被氧化為 O_2 。於是以 PS II 起始，由 OH^- 而來的一個電子能還原產生的氧化劑 Y^+ 。因另一電子還原 Q，且沿鏈鎖經過至 PS I 處的氧化劑。欲完成全部程序，電子由 Z^- 流至 $NADP^+$ 以伴生此化合物之還原反應。

因電子在 PS I 及 PS II 間流動；乃發生 ADP 之磷酸化反應。至少有一個磷酸化反應步驟發生，因一對電子由 Q 流往 P-700，然則磷酸化反應機程與尚未知曉的呼吸鏈鎖的結合是相同的。利於化學偶聯假說的觀察（第 14-7 節）包括由豐富 ATP 酶層片碎塊的葉綠體的分離以及偶聯因子在內。在支持化學滲透假說（第 14-7.2 項）的葉綠體照射過程中，有離子運動發生。在此聯繫中可能在一膜內排列“Z”圖解的成分是依據在葉綠體內膜中的 pH 程度（見圖 15-3）。

15-8 環狀磷酸化作用 (Cyclic Phosphorylation)

環狀磷酸化作用的基本性能是 ATP 在此程序中產生而無任何淨的電子傳遞至 $NADP^+$ 。Arnon 氏及其同工深入研究此程序知以活化 PS I 之較長波長光完成之。因既非 NADPH 也非任何其他被還原的化合物在此程序中積存，當 PS I 被活化時，光合作用在 PS I 上使電子合用，設想使之回返產生的氧化劑 (P-700) 處。故電子之一種環狀流動發生尚涉及其細胞色素——細胞色素 b_{563} ($E'_0 = -0.18 V$)。在電子流遍歷此環狀途徑時至少有一個 ATP 由 ADP 及 H_3PO_4 產生。設想其機程也與氧化性磷酸化反應中所發生的類似。

15-9 在細菌的光合中之電子流 (Electron Flow in Bacterial Photosynthesis)

光合的細菌使用無機的 (H_2S , $Na_2S_2O_3$) 及有機的 (琥珀酸, 醋酸) 等等還原劑而非 H_2O ，則不需要非用 H_2O 之有機體的 PS II 才可以。此等有機體使用的電子途徑在圖 15-2 中示明，在該處電子饋入質體醌階段的電子傳遞鏈鎖中。故，此等有機體需要的光 (對於 PS I) 只在於還原“鐵還原-氧化體”。被光產生的氧化劑 (P-700) 會接受由起初還原劑原來提供的電子。

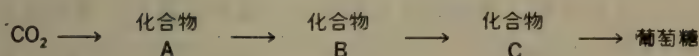
然後，此等程序描述何以 NADPH 及 ATP 在光合過程中產生的。下一節

討論“黑暗反應”對 CO_2 同化在光合有機體的有機化合物中情形。

15-10 碳之途徑 (Path of Carbon)

15-10.1 方法論 (Methodology) CO_2 終於轉變為碳水化合物及其他有機化合物的反應系列在 Calvin, Horecker, 以 Racker 諸研究所已大有進展。但，問題並非廣泛實行，直至 CO_2 參與光合作用之首次產物被 Calvin 氏及其同工鑑定後，才展開了。此研究是一種解決極端複雜問題引用新技術的著名實例。

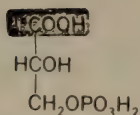
基本實驗途徑如下：實行光合的植物在穩定的反應率下 CO_2 轉變為葡萄糖是經過一系列的中間物：



若零時（最初），將放射性 CO_2 ($^{14}\text{CO}_2$) 引入此物系中，則若干標識的碳原子將轉變為葡萄糖，且在此時發生之所有中間物均將被標識出來。若經過一短時期後，將此光合成的植物浸漬於熱酒精中，俾使其酶類不再具活性，且停止其所有反應，則標識的碳原子有時間僅在首先二三中間物中。若間隔甚短，標識碳原子可能僅在第一種安定中間物，化合物 A 中存在，且僅固定 CO_2 之第一種產物是標識的。

在 1946 年，碳 - 十四可由原子能委員會得到所需之量。再者紙色析法 (paper chromatography) 之技術已完全發展成功 (見附錄 II) 且可用以分離在植物中大量存在的細胞成分。用此等工具 Calvin 研究組便能將 CO_2 至葡萄糖的碳途徑中安定中間物鑑別出來，他們用藻類之懸浮液綠藻 (scene-desmus 或 chlorella)，其在光線與 CO_2 環境下生長速率是一定數。 $^{14}\text{CO}_2$ 在初時（時間為零）引入混合反應中，再經過一時間後，於是細胞以沸酒精萃取，此酒精溶液再以紙色析法分析之。在藻類安置 $^{14}\text{CO}_2$ 內 30 秒鐘後，己糖磷酸，丙糖磷酸，及 3-磷酸甘油酸均已標識點。時間再長此等化合物亦與氨酸及有機酸均有標識。以 5 秒鐘之曝露大部分放射性碳乃標識出 3-磷酸甘油酸在此化合物中羧基原子團內有大量放射性矣。

此結果乃假定 3-磷酸甘油酸乃若干未知的二碳原子化合物被羧酸化而形



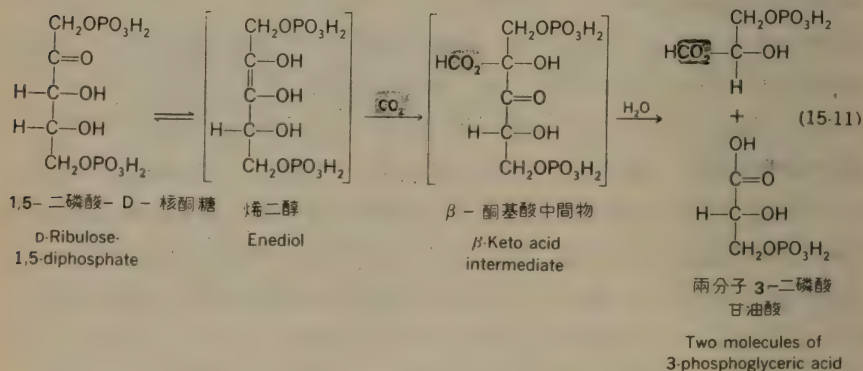
3-磷酸甘油酸

3-Phosphoglyceric acid

成的。但欲確證任何此等接受者分子均告失敗。亦更仔細研究早先的光合產物顯示 7-磷酸景天庚酮糖，及核糖雙磷酸亦為標識物。故轉而假定糖類或亦涉及為 CO_2 之接受體。

15-10.2 CO_2 還原 (Calvin) 循環 [The CO_2 -reduction (Calvin) Cycle] 在此時期，戊糖磷酸途徑之諸反應 (第十一章) 亦在其他研究機構中發表了，而且丁糖，戊糖以及庚糖間之關係亦已建立。更仔細的研究此等化合物中 ^{14}C 之標識情形，Calvin 研究所乃設定在光合過程中一種二氧化碳還原的循環 (圖 15-4)。此循環基本上僅涉及一種新反應，即 1,5-二磷酸核酮糖之羧酸化反應以後再討論，其餘的反應均相等或類似於以前的糖酵解及戊糖磷酸鹽代謝各反應。在 Calvin 循環中假定的各反應催化時需要的酶類已知均在葉綠體中存在。

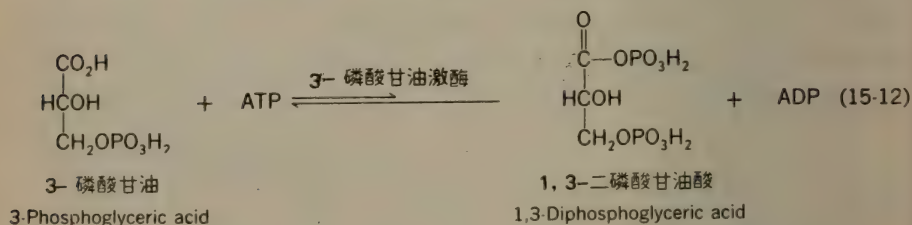
15-10.2.1 羧 (基) 化作用相 (Carboxylation Phase) 將反應分為三種相，則此令人迷惑的圖解却能更為瞭解。首先，羧 (基) 化作用相，涉及一單純的反應為 1,5-二磷酸核酮糖羧化酶 (ribulase-1,5-diphosphate



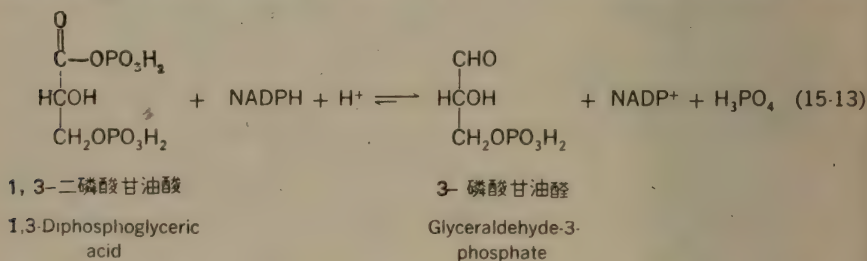
conboxylase) 又稱羧基歧化酶 (carboxy dismutase)。此關鍵性反應涉及並非一個二-碳化合物的羧基反應而是五-碳化合物, 1,5-二磷酸核酮糖而產生2莫耳之3-磷酸甘油酸。

在1,5-二磷酸核酮糖羧基酶環境下, 將 CO_2 加二磷酸核酮糖形式的烯二醇 (enediol) 形成一種不安定的 β -酮基酸, 此酸受水解分裂成為兩分子磷酸甘油酸。此反應之平衡距右端很遠。羧基酶首次純化乃Horecker氏由菠菜葉中得到的均態蛋白質, 其中含5-10%的可溶性蛋白質, 分子量550,000且為一8個小聚合元(12-16,000MW)及8個大單位(54-60,000MW)組成的低聚物(Oligomer)。

15-10.2.2 還原作用相 (Reduction Phase) 碳還原作用循環之第二相, 稱為“還原作用相”, 由兩種前在糖酵解中見到的反應組成。在此等反應中消費ATP及一被還原的菸醯胺核甙酸。首先是3-磷酸甘油酸的被ATP磷酸化成1,3-二磷酸甘油酸:



此第二反應乃是1,3-二磷酸甘油酸被NADPH在一NADP-特效的3-磷酸甘油醛脫氫酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 環境下還原:



葉綠體酶為ATP及NADPH所活化。即在此等二反應中需要NADPH及一半ATP來推動碳還原循環。

15-10.2.3 再生相 (Regeneration Phase) 在循環中其餘的反應由第三個相或“再生相”構成，欲維持循環之操作須完成5-磷酸核酮糖之再生。在表15-2中列出此相之各反應，以符計量化學的需要。注意總數為36個碳原子在12個3-磷酸-甘油醛分子中在此還原相末端經再生相反應轉變在再生相之末端進入一個6-磷酸果糖分子（6個碳原子）及6個1,5-二磷酸核酮糖分子（30個碳原子）。這最後的再生相反應也需要ATP。由此相產生的6分子的二磷酸核酮糖於是對羧基化作用有價值，且能維持此循環之功能。

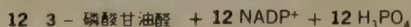
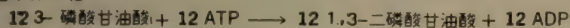
碳還原循環的全部計量化學所得總和在表15-2中。產生之6-磷酸果糖能轉而藉糖酵解早期步驟中之反應逆轉而得葡萄糖（第10-7.1項）：

表15-2 碳還原循環之計量化學

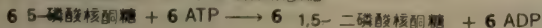
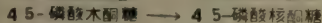
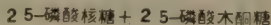
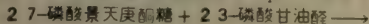
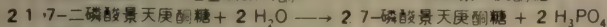
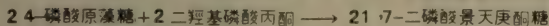
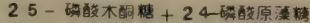
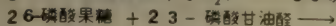
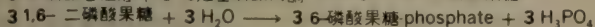
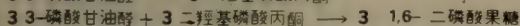
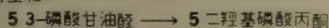
羧基化作用相



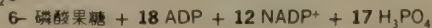
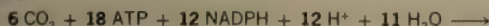
還原作用相

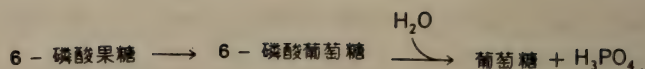


再生相

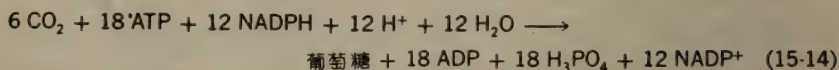


總和

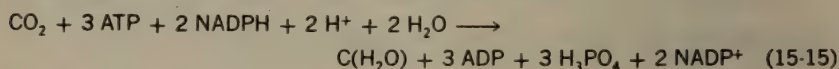




如此進行，碳還原循環之全部情形變為



以 6 除此式，說明就光合的能學上一個重要事實：



反應 15-15 示明光合作用需要 3 莫耳之 ATP 及 2 莫耳之 NADPH 來轉變 1 莫耳之 CO_2 為碳水化合物之成分。

15-11 光合作用之量子需要 (Quantum Requirement of Photosynthesis)

反觀圖 15-2 中能量轉變的程序，今可將所需的有限數量的光量子(light quanta)置入二分子 NADPH 中以應方程式 15-15 之需。在綠色植物中使用 H_2O ，PS I 及 PS II 均必須被活化四次，每次產生四個電子做為還原 2 NADP^+ 之所需。故最小之需要量是總數 8 個光量子，因對於每個光活化程序至少需要一分量子方能在能量轉變圖解中 Q 及 Z 上造成一有用的電子。也應顯示非環化光磷酸化反應只能產生所需 ATP 的三分之二，假若聯接 PS II 及 PS I 途徑穿過一對電子只能發生一個磷酸化反應的話。在此等條件下假如有更多的光補充。環狀磷酸化作用或者能提供外加的 ATP。但若在 PS II 及 PS I 聯接的鏈鎖中有兩個磷酸化作用的部位，則充分的 ATP 是有用的。

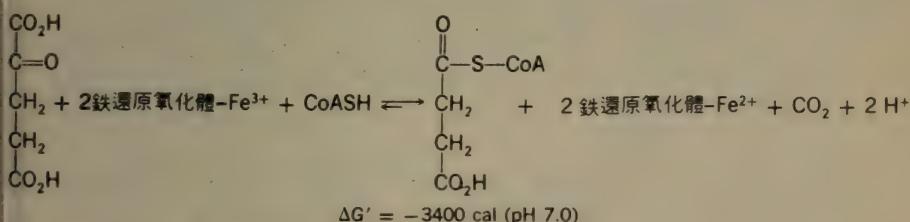
光合作用之能量需要最後一種情況值得介紹。在表 15-1 中，已示明 650 nm 之光合能量 44,000 cal/Einstein。一般假定此能量的 75% (約 30,000 cal/Einstein) 對光合作用是有用的，其餘的則以熱的形式分散了，因電子由三重態經過至轉變態也。但若每 2 分子之 NADPH (對 2 莫耳 NADPH 為 8 個 Einsteins) 8 個量子是推動能量轉變程序之最低要求，則見 $8 \times 30,000$

或 240,000 cal 對轉變 1 莫耳 CO_2 為碳水化合物是有效的。由方程式 15-2 已見完成此程序需要的最低量為 118,000 cal。可見以此等計算知光合作用之全部效率為 118,000/240,000 或 49%。

15-12 在細菌中之還原性羧基化反應 (Reductive Carboxylation in Bacteria)

證據指陳某些光合的細菌〔*Chlorobium thiosulfatophilum* 及核染質細菌 (*chromatium*)〕不能用 Calvin 氏及其同工對 CO_2 同化作用的圖解。而是此等有機體用三羧酸循環來以相反的方向操作。由第十二章中注意此循環的操作，讀者會理解欲使此循環逆轉必須以 α -氧代戊二酸脫氫酶催化此不可逆的反應。

Arnon 及 Buchanan 兩氏已察見此等有機體中含有稱為 α -氧代戊二酸合成酶 (α -ketoglutaric synthase)，使用還原的鐵還原氧化體為還原劑而不是用 NADH：



在第 12-4.4 項中以 α -氧代戊二酸脫氫酶催化之反應其 $\Delta G'$ 為 -8000 kcal 。在 pH 7.0 時鐵還原氧化體之 E'_0 為 -0.42 V ，而對於 NAD^+/NADH 者為 -0.32 。此二氧化劑之 E'_0 差值 (-0.10 V) 可以由 (第 6-6 節) 求計相當於 -4600 cal 。故在光合的細菌中藉 α -氧代戊二酸合成酶之催化反應其 $\Delta G'$ 可估計為 $-8000 - (-4600)$ 或 -3400 cal 。此值在其他已見之可逆反應範圍內，故此反應能由右至左進行。因所有其他的 Krebs 循環反應均為可逆的，且因此等有機體含有一種丙酮酸合成酶 (pyruvic synthase) 是需要鐵還原氧化體而不是 NAD^+ ，在圖 15-5 中示明由 3 莫耳之 CO_2 可合成丙酮酸。此等有機體或者用檸檬酸分裂酶 (第 12-9 節) 而不是用檸檬酸合成酶來裂解檸檬

樣酸及再生所需之草醋酸以便再度做此循環。一俟丙酮酸形成，便能用前述反應轉變碳水化合物及脂質。反之，能以丙酮酸羧基酶（第12-7節）轉變為草醋酸，為一組成補充的程序（anaplerotic process），而且對於組成的目標也能使用Krebs循環。

此還原性羧酸化反應之能量需要相當大，且較在綠色植物中操作Calvin循環還要大。總數2莫耳之ATP及五個還原當量之2個電子（ FADH_2 ， 2NADH ，以及4個還原氧化體）均需要由3莫耳 CO_2 產生1莫耳之丙酮酸。

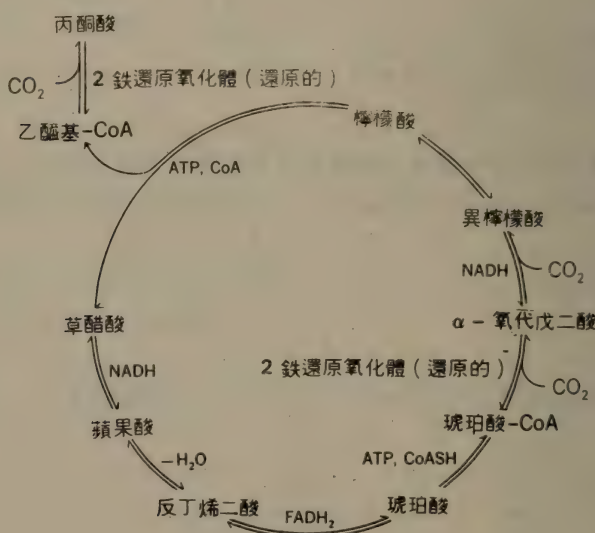


圖15-5 光合成的細菌之還原性羧基化循環。

15-13 C_4 途徑 (The C_4 -pathway)

許多植物，包括熱帶起源的重要農作植物——熱帶牧草，甘蔗，玉蜀黍及蜀黍——均具有對 CO_2 同化的有趣變化。早先研究此等植物指示 CO_2 起初與某些二羧酸，蘋果糖，或天門冬酸而非磷酸甘油酸組合。澳洲組的M. D.

Hatch 及 C. R. Slack 二氏在 1966 年起始的一系列研究激起了許多研究所的工作，結果得此 C_4 (或 Hatch-Slack) CO_2 同化途徑之知識。

用 C_4 途徑的植物也具有葉解剖學的普通性能，其中導管要素（韌皮部及木質部）均為維管束鞘細胞所包圍，然後再被中形葉細胞（*mesophyll cell*）一層或多層包裹之（圖 15-6）。此特徵性解剖（Kranz-型）已長久引證為一機程是植物生活在乾燥或熱區域時能藉蒸發而最低損失組織的水分，因傳導

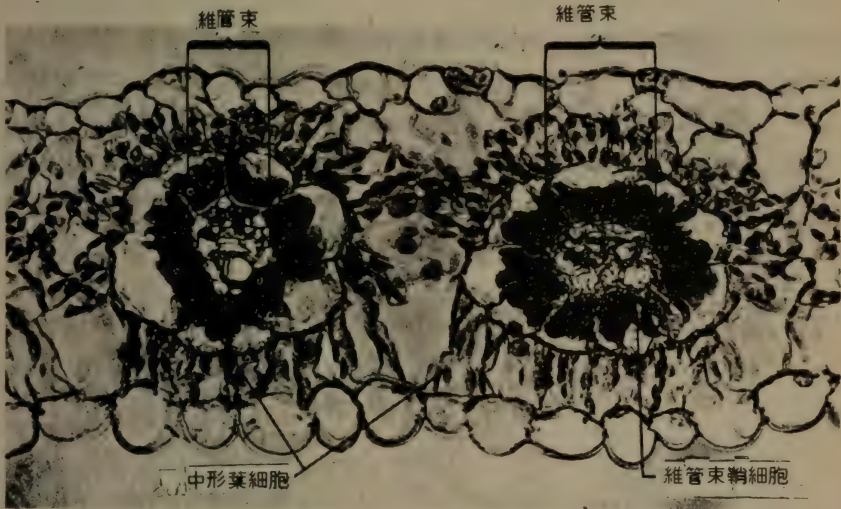
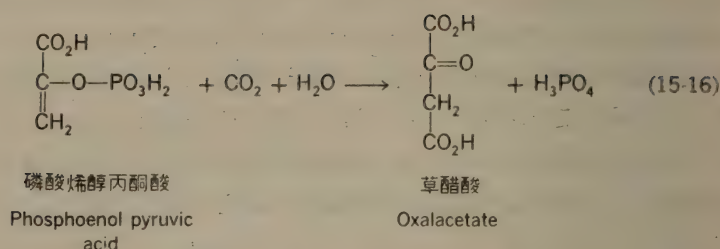


圖 15-6 可食莧菜 (*Amaranthus edulis*) 維管束，維管束鞘細胞，以及中形葉（葉肉）之顯微鏡照片，W.M. Latsch 特許轉載。

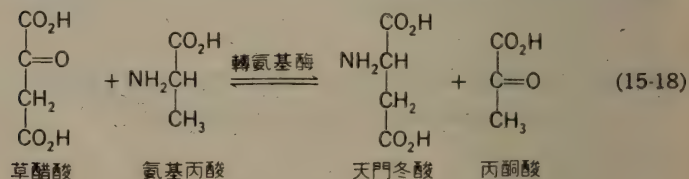
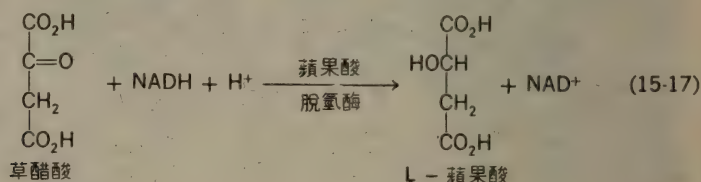
要素在葉的表面上氣門（*stomata*）處以一或多層中形葉細胞分離也和維管束鞘層一樣。這種顯而易見的結構性能也對於光合作用限制 CO_2 量。且討論 C_4 -途徑代表熱帶的及沙漠植物對此壓迫之適應作用。 C_4 -途徑將以中形葉及維管束鞘細胞中發生的反應情形來討論。

15-13.1 中形葉（葉肉）細胞（*Mesophyll Cells*） CO_2 進入— C_4 -植物之葉中在氣門的開閉過程中將擴散至中形葉內，此處對於磷酸烯醇丙酮酸羧基酶（*phosphoenol pyruvic acid carboxylase*）則做為一受質：

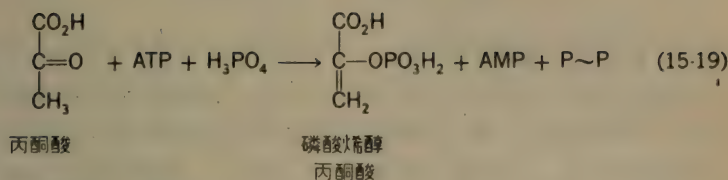


此酶對 CO_2 之親和力較1,5-二磷酸核酮糖羧基酶的更大得多乃局限於中形葉細胞之葉綠體中。故對於低濃度之 CO_2 做更有效的捕集，且產生草醋酸。

C_4 -植物可分類為在中形葉細胞具有高濃度蘋果酸脫氫酶的，及具有一活性氨基丙酸-天門冬酸轉氨酶的兩種。在前者（反應15-17）草醋酸被還原為蘋果酸，而後者中（反應15-18）則形成天門冬酸。於是相信此等兩種二羧酸作用如 CO_2 載體，且進入維管束鞘細胞。

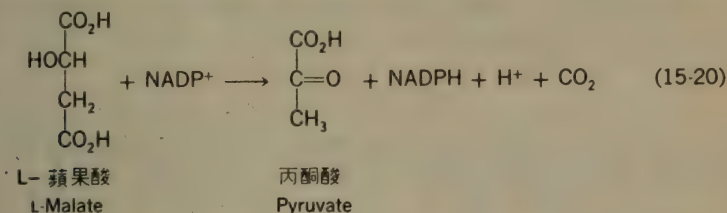


中形葉之其他獨特的反應是 CO_2 的捕集劑的反應，磷酸烯醇酸由丙酮酸（此物終於由維管束鞘細胞而轉返）形成。催化此反應之酶為“丙酮酸磷酸雙激酶（pyruvate phosphate dikinase）（反應15-19）：

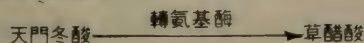


此酶也只在中形葉細胞中發現。

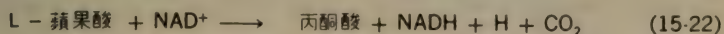
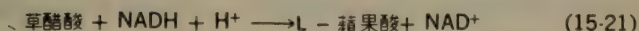
15-13.2 維管束鞘細胞 (Bundle-Sheath Cells) 用蘋果酸為 CO_2 載體的植物，在其維管束鞘葉綠體中具高濃度的 NADP -特殊蘋果酸酶（第 12-7.1 項）。此酶催化 CO_2 形成（即釋出）蘋果酸，然後經由 Calvin 循環組合之。Calvin 循環之酶類僅在維管束鞘葉綠體中發現與 NADP -蘋果酸酶在一齊。形成之丙酮酸在此反應中轉入中形葉中：



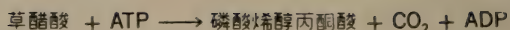
用天門冬酸為 CO_2 之載體的植物含有一種轉氨基酶在維管束鞘細胞中，再轉變天門冬酸回返至草醋酸



此草醋酸之命運端視特殊之植物而異。主要的形成天門冬酸的類別含有一種 NAD^+ -特殊蘋果酸脫氫酶（第 12-4.8 項）及一種 NAD^+ -特殊蘋果酸酶（第 12-7.1 項）。此等兩種酶均首先轉變草醋酸為蘋果酸，然後再成 CO_2 及丙酮酸。



另有一小組類天門冬酸載體彷彿能轉變草醋酸，為 PEP 及 CO_2 歸因於含有 PEP 羧基激酶（第 10-7.2 項）之故。



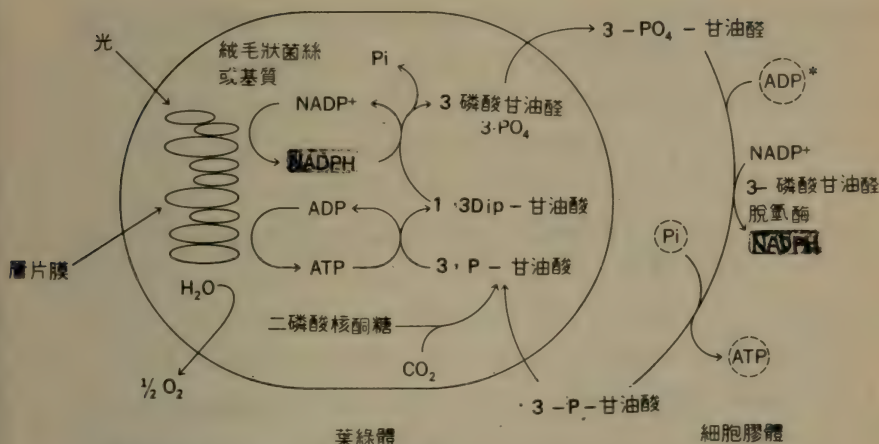
蘋果酸-及天門冬酸-載體植物二者均在維管束鞘細胞中釋出 CO_2 ，在此細胞中假設終於濃度之對於 Calvin 循環之 1, 5-二磷酸核酮糖羧基酶為一受質。在此特殊-載體植物中，有一另外的步驟，乃是由中形葉移動氨基酸至維管束，它不僅載負 CO_2 且亦載負一個氨基 ($-\text{NH}_2$)。欲避免有一淨的氨基氮進入維管束細胞，相信在反應 15-22 形成的丙酮酸受轉氨基作用而成氨基丙酸，然後此酸移出中形葉，由此均衡 $-\text{NH}_2$ 原子團。在中形葉中，氨基丙酸能與起初形成之草醋酸行轉氨基作用。此等關係在圖 15-7 中示明。

總括言之， CO_2 固定作用進入 C_4 -雙羧酸中可能看做對於捕集 CO_2 是一有效的機程，且濃集之在維管束中對於同化則再藉 Calvin 循環的途徑。 C_4 -途徑或者對生態的情況有所解答，藉高度輻射，較高溫度，以及供應有限之 H_2O 仍可進化。 C_4 -品種之能生存及成長在此等條件下便歸因於 PEP 羧基酶能以低濃度 CO_2 操作也。

15-14 由葉綠體傳遞 ATP 及 NADPH 至細胞膠體 (Transfer of ATP and NADPH from the Chloroplast to the Cytosol)

在光合成過程中，NADPH 及 ATP 在葉綠體中形成並非對葉綠體外的反應直接有價值，因既非核武酸能穿過，也非能逃脫葉綠體的外包皮。已假設有一穿梭系統涉及 3- PO_4 甘油醛 (GAP, glyceraldehyde-3- PO_4) 及 3-磷酸甘油酸 (3-PGA, 3 phosphoglyceric acid)，二者均可自由滲透。故 3-PGA 藉二磷酸核酮糖之羧酸化作用在葉綠體基質 (絨毛狀菌絲) 相 (chloroplast stroma phase) 中合成，且被 NADPH 及 NADP^+ : GAP 脫氫酶，在 ATP 環境下還原為 GAP。NADPH 及 ATP 均由非環狀磷酸化反應所產生。GAP 易於移出葉綠體進入細胞膠體中，在該處與可逆的細胞膠體的 NADP^+ : GAP 脫氫酶反應形成 3-PGA，NADPH 及 ATP。故一個 NADPH 及一個 ATP 均有效地傳遞出葉綠體進入一個 GAP 的轉變為一個 3-PGA，假如需要的話，此物能再循環返回葉綠體。另外一種穿梭系統可對間接傳遞 NADPH 由葉綠體至細胞膠體利用一種不可逆的 NADP^+ : GAP 脫氫酶操作之，此酶

不需要無機 PO_4 。此等觀念在如下圖解中表示之：



* 虛線圖指示，對於不可逆的脫氫酶 $\text{Pi} + \text{ADP}$ 均不涉及，且 ATP 不生成。

15-15 光合成之調節 (Regulation of Photosynthesis)

許多 Calvin 循環之酶類均受代謝的調節控制。此等酶是 1,5-二磷酸核酮糖羧基酶；3-磷酸甘油酸激酶；3-磷酸甘油醛脫氫酶；1,6-二磷酸果糖磷酸解酶；以及 5-磷酸核酮糖激酶。(注意前三種酶可催化羧酸化反應及 Calvin 循環之還原反應)。調節機程轉而分為兩種效果。此等酶類之每種效果因整體植物之光合作用而增強；每種效果可歸因於預先造成的酶之活化作用。此外，此等酶之若干“絕對量”在光照射時，則在整體植物中增加酶之活性，在黑暗中，此等酶之量則轉而減少。

除光之效果外，尚有特殊的化合物其作用有如此等酶之活化劑。故羧基化作用酶被 6-磷酸果糖所活化而被 1,6-二磷酸果糖所抑制。此等化合物之效果在磷酸化反應率上轉而被光作用於 1,6-二磷酸果糖磷酸解酶上而受影響。光能產生被還原的鐵還原氧化體，此物轉而活化 1,6-二磷酸果糖磷酸解酶；此酶轉變二磷酸為 6 磷酸果糖，然後此物活化羧基酶。

ATP 及 NADPH 二者均能藉照射葉綠體產生，轉而活化 3-磷酸甘油醛脫氫酶；此外 ADP 需要 3-磷酸甘油酸激酶。最後，5-磷酸核酮糖激酶為 ATP 所活化。所有此等效應在光中聯合而產生一碳原子的快速流動遍行 Calvin 循環。

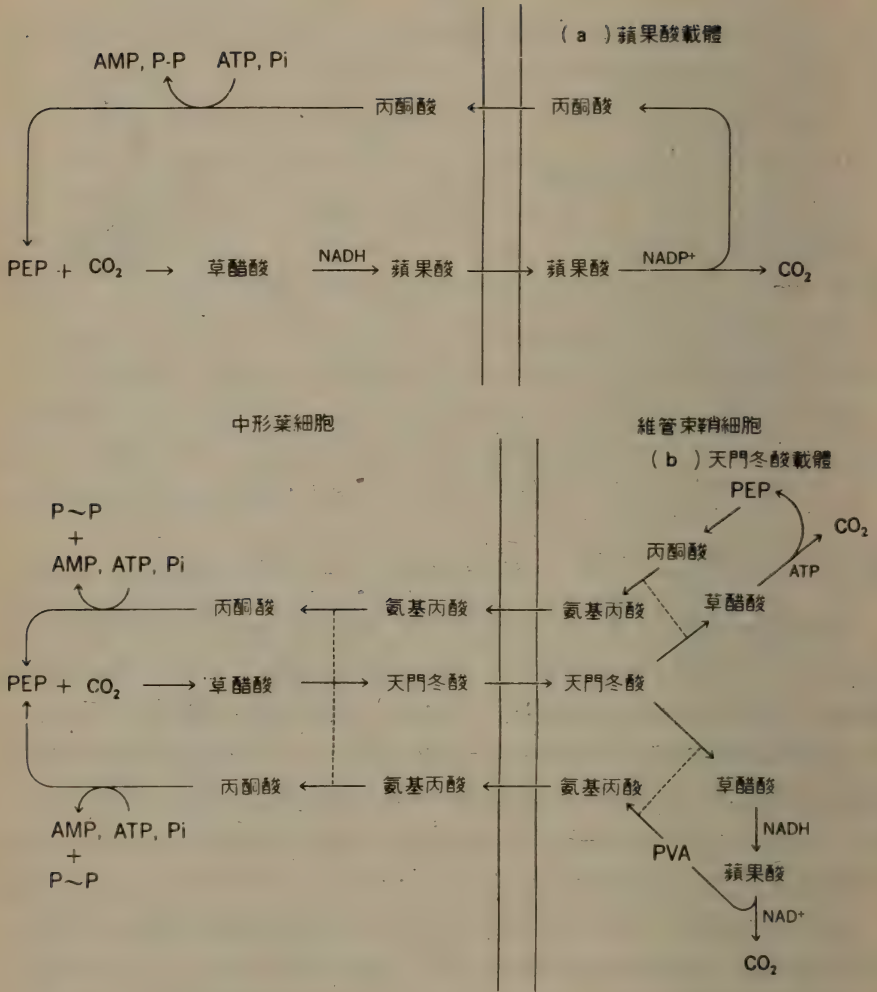
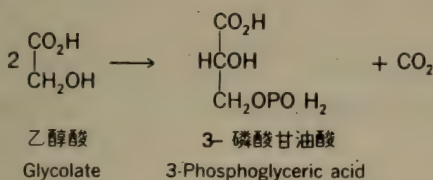


圖15-7 在C₄-光合成中做為CO₂-載體，蘋果酸或天門冬酸之任務。點線表示氨基之傳遞。

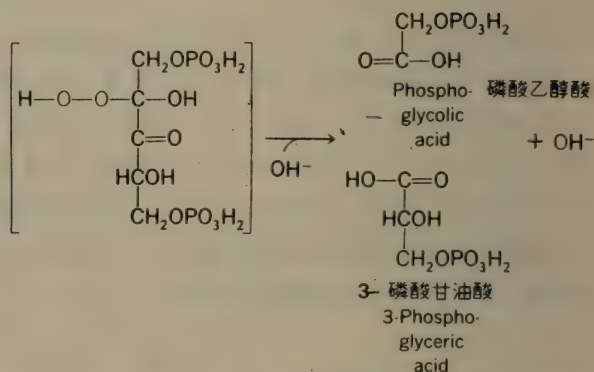
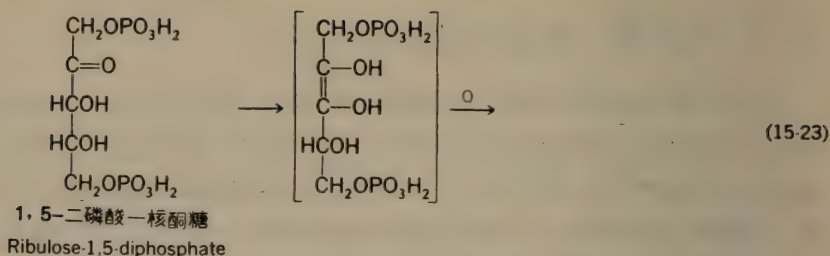
15-16 光呼吸 (Photorespiration)

植物自然也像動物及微生物一樣實行相同的一般呼吸程序，是依糖酵解及Krebs循環的途徑降解碳水化合物的。它們也呈現 β -氧化作用及催化一般蛋白質的及氨基酸分解代謝的反應。再者，此等反應在相同的植物細胞（線粒體，細胞質，微粒體等等）中發生像在動物細胞中一樣。但，許多植物也呈現另外一種代謝的活性稱為“光呼吸”這只在此等植物經照射時才發生的。因光呼吸的結果 CO_2 更進展及 O_2 被消耗，且具降低光合作用的淨效果，故亦減弱植物成長及穀類產量。為此理由這現象已擴大研究。

乙醇酸 (glycolic acid) 是某些植物在此等實驗條件下——高 O_2 及低 CO_2 ——光合形成的主要產物均利於光呼吸。其他證據指示乙醇酸為在光呼吸中產生 CO_2 之來源，且建議當量的2莫耳乙醇酸轉變為1莫耳 CO_2 及1莫耳3-磷酸甘油酸即藉存在於過氧體 (peroxisomes) (在綠色植物中存在的微粒體) 及線粒體中之酶類所催化而成。



在此程序中關鍵反應為乙醇酸之形成（為磷酸乙醇酸）；有關之酶為1,5-二磷酸核酮糖羧酸酶(方程式15-11)，即Calvin循環中之羧酸化酶。此酶置於高濃度 O_2 (20%以上)，及無 CO_2 時，1,5-二磷酸核酮糖乃分裂如下：



如此產生的磷酸乙醇酸於是進入一系列的反應（圖 15-8）中結果釋出 25% 的碳在乙醇酸中及產生 3-磷酸甘油酸。後者進入 Calvin 循環再度繼續此程序。

呈現光呼吸之植物包括穀類，小麥及米，許多蔬菜，甜菜，及供應世界食糧之主穀類。在若干此等植物中已估計藉光合同化之 CO_2 淨值可由光呼吸減少 50%。若干研究家已倡議能實際的提高五穀產量只要抑制其所呈現的光呼吸作用。其他重要的食物五穀——玉蜀黍，蜀黍，甘蔗——則無此光呼吸現象發生。但因如此植物之葉含有過氧化體且設想能仍舊會實行光呼吸的各個反應，需要若干解釋。若干證據顯示此等植物可依賴 C_4 -固定程序如前述，因其固定 CO_2 之較大效能，能再使用任何在光呼吸中產生之 CO_2 且有效的保持全部的 CO_2 。

光合程序之原始生命的簡短陳述只能用來揭示此主題之知識何其有限。所幸，更深入的研究將剖析能量轉變程序的細節，且提供基本資料，將使人們為其糧食的最適生產做調節的光合作用。

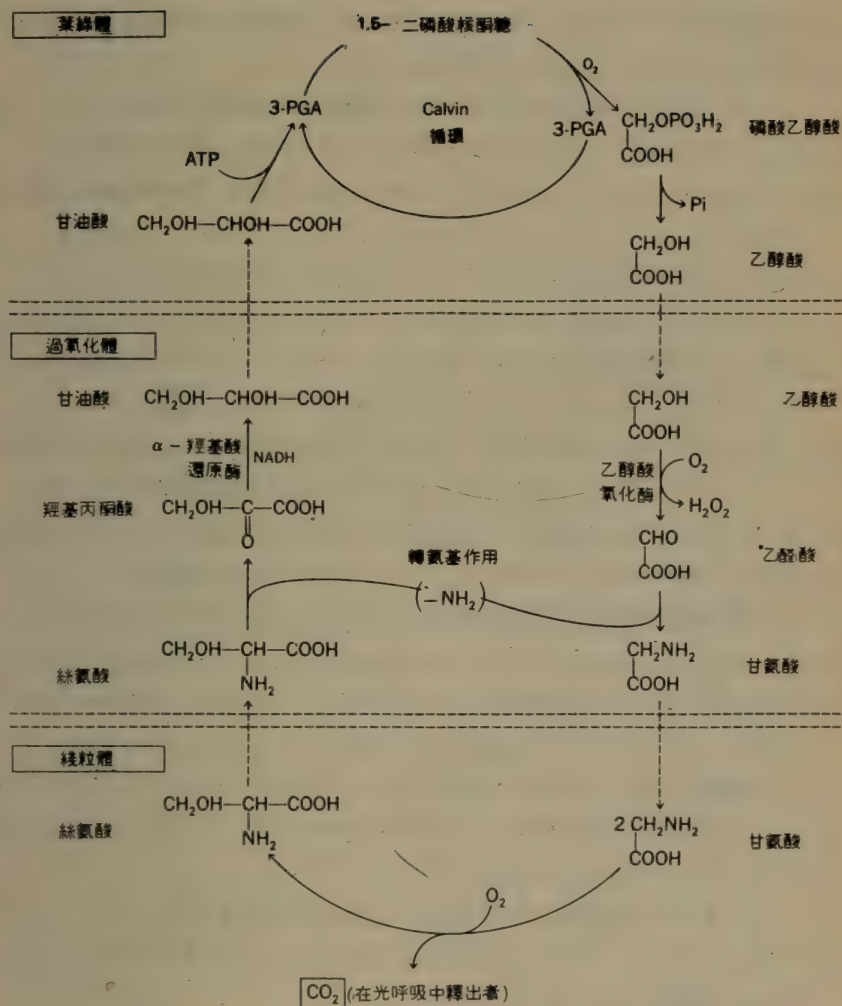


圖15-8 乙醇酸代謝及光呼吸作用，一種涉及三種微器官的程序。

參 考 文 獻

1. R. Hill, "The Biochemists' Green Mansions: the Photosynthetic Electron Transport Chain in Plants," *Essays in Biochemistry*. vol. I. London: Academic Press, 1965.
 一本優良的光合能量轉變程序的書籍並附有關的主要圖片。
2. A. Trebst, "Energy Conservation in Photosynthetic Electron Transport of Chloroplasts," *Ann. Rev. Plant Physiology*, 25, 423 (1974).
 一本新出的能量守恒程序及討論有關膜現象的書籍。
3. M. D. Hatch and N. K. Boardman, "Biochemistry of Photosynthesis" in *Biochemistry of Herbage* vol. II, (G. W. Butler and R. D. Bailey), eds., New York: Academic Press (1973).
 兩位著者在這方面已寫過一本非常可讀的專論包括許多光合成的景象——碳代謝作用，能量守恒，光呼吸，以及植物生物學。
4. J. A. Bassham and M. Calvin, *The Path of Carbon in Photosynthesis*. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall, 1957.
 有關實驗的途徑及所得結果是作者在光合成中研究碳途徑的成果。
5. M. D. Hatch and C. R. Slack, in *Progress in Phytochemistry*, L. Reinhold and Y. Liwischitz, eds. vol. 2. London: Interscience, 1970.
 藉蔗糖，玉米，以及其他熱帶牧草，在 CO_2 同化作用中二羧酸之任務。
6. I. Zelitch, *Photosynthesis, Photorespiration and Plant Productivity*. New York: Academic Press, 1971.
 是一本優良的書籍，是三種論題上豐富資料的來源。
7. N. E. Tolbert, "Glycolate Biosynthesis," *Current Topics in Cellular Regulation*, 7, 2 (1973).
 一本乙醇酸代謝作用的新本。

習 題

1. 一小麥種植在含有放射性碳的二氧化碳化合物 ($^{14}\text{CO}_2$) 大氣中。光合作用30秒鐘後，將此植物殺死，且將單糖葡萄糖分離出來，降解此葡萄糖，發現放射性碳 (^{14}C) 在此六個碳原子中占有其中之兩個。指陳該葡萄糖之何者碳原子被標識，且指示能說明此標識的最大可能的反應順序。
2. 在第1題中相同的實驗內，氨酸、氨基丙酸分離得之。降解此氨基丙酸發現放射性碳 (^{14}C) 在此三個碳原子中占其一。指陳氨基丙酸之何者碳原子是標識的，且指示能說明此標識的最大可能的反應順序。
3. 對於光合成之碳途徑 Calvin 循環乃由三種相所組成。鑑別此三種相，且寫出在每一種所發生的酶反應之均衡方程式，並對有關之酶命名。
4. 說明何以 Hill-Bendall 或 “Z” 圖解在光合成之能量傳遞中預言每莫耳之消耗的 CO_2 需要八個光子的量子量。
5. 描述（氧化性）三羧酸循環之修正，可依此逆轉操作，即對於在某些嫌氣的光合成細菌中在 CO_2 固定上還原性的羧酸循環。
6. 試寫出一種可逆的及不可逆的酶催化的 CO_2 固定反應方程式。並寫出有關之酶類及輔因子之名稱。
7. 在一暫短期間，在光合性藻類 *Chlorella* 細胞中標識的草醋酸是藉 Calvin 途徑光合成放射性 $^{14}\text{CO}_2$ 。在蔗糖中（用於 Hatch-Slack 途徑）草醋酸也在短期內變成標識物，當植物以 $^{14}\text{CO}_2$ 處理時。示明何以兩種試樣中（由 *Chlorella* 及蔗糖）之草醋酸會被標識。

第十六章

氮及硫之循環

The Nitrogen and Sulfur Cycles

目標 本章中將研討極為重要的程序氮固定，將一種鈍性氣體，二氮原子的氮氣，變為一種高度反應性的受質， NH_3 ，此物再藉大量反應轉變為穀氨酸（glutamic acid）。同等重要是轉變無機硝酸鹽為 NH_3 及無機硫酸鹽為有機硫，經由許多錯綜複雜但又十分肯定的生化反應。

16-1 引言 (Introduction)

除光合成及呼吸作用外第三基本程序即氮之固定（nitrogen fixation）。氮固定為已知循環反應氮循環（nitrogen cycle）之一部分。許多生命細胞含有氮；包括蛋白質，氨基酸，核酸，嘌呤，嘧啶，核糖，植物鹼及維生素在內。結果此等化合物之氮原子最後穿行氮循環，在循環中大氣之氮做為一儲存庫。氮經固定程序由儲存庫中移出，而再以脫氮反應（denitrification）之程序回返原處——大氣中。

發生之氮化學程序規模非常之大，最近估計由美國土壤中每年移取之氮量 25×10^6 噸，大部分為農產物之收穫所吸取，小部分則為土壤滲濾所流失。土壤中儲存之肥料估計由施肥，尿，化學肥料而轉變之氮為 3×10^6 噸。雷雨中生成之氮氧化物溶於雨中者亦約有 3×10^6 噸。而最大量來源乃微生物之固定氮，可得 10×10^6 噸。即使如此，仍呈現氮之缺乏愈形擴展，故亟謀如何有效保持土壤中肥沃度。

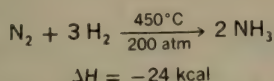
若干無機氮化物，以及無量數之有機氮化物均可視為氮循環的成分。以往的包括 N_2 氣體， NH_3 ，硝酸根離子 NO_3^- ，亞硝酸根離子 NO_2^- ，及羥氨 NH_2OH 等。各該化合物中氮原子之不同氧化數為：

	硝酸根 離子	亞硝酸 根離子	次亞硝酸 根離子	氮氣	羟 氨	氨
	NO_3^-	NO_2^-	$\text{N}_2\text{O}_2^{2-}$	N_2	NH_2OH	NH_3
氧化數	+5	+3	+1	0	-1	-3

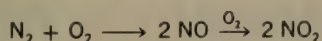
故在自然界中，氮在 NO_3^- 形式中為最高氧化態，及在 NH_3 之最低氧化態，中間尚有多種氧化態。

16-2 非生物性氮固定 (Nonbiological Nitrogen Fixation)

所謂固定意即轉變分子的 N_2 成為上述之無機形式中之一種。此程序之特性為分離 N_2 之兩個原子，因其具有三鍵，($\text{N} \equiv \text{N}$)。 N_2 為非常安定的分子，故估計需約 225 kcal 始可裂斷此叁鍵，亦即裂斷 $\text{C}-\text{C}$ 鍵之三倍力量。此反應之困難情形可由第一次大戰期間德國發展之 Haber 程序中固定氮之條件可以窺見。當時英國艦隊封鎖智利硝石運往德國之路線，故亟謀發展其他氮源以供軍火之用。Haber 程序涉及 N_2 及 H_2 在高溫及高壓下形成 NH_3 。後者能再被氧化而成 HNO_3 也。Haber 程序現在已經化學工業固定氮而產生商用肥料矣。



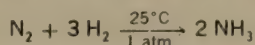
第二種固定氮之法乃雷電之空中放電，產生種種氮之氧化物，再溶於水蒸氣中落在地面即亞硝酸及硝酸：



以上反應為土壤氮素補給之重要方法，然固定氮之大部厥為微生物之法。

16-3 生物的固定氮法 (Biological Nitrogen Fixation)

與化學的固定氮成強烈對比，生物的固定氮由於酶活性能在低溫與低壓下進行。



生物的固定氮由不依附任何其他生物而生存的，非共生微生物 (nonsym-

biotic micro - organisms), 或由某些與高等植物共生之細菌。前者包括好氣的土壤微生物固氮菌 (azotobacter), 嫌氣的土壤細菌 (clostridium), 光合成細菌 rhodospirillum. rubrum 及藻類 (myxophyceae)。後者共生的系統為根瘤生物 (rhizobia) 與豆科如苜蓿, 紫苜蓿及黃豆等共生。豆科植物並非唯一的能共生的固定氮的高等植物; 190 種灌木及樹木包括美洲的 Sweet Bay, 鼠李, 赤楊等均可固定氮。誠然, 高山之湖其肥沃度即由流入的小川周圍茂密的赤楊樹叢而決定。

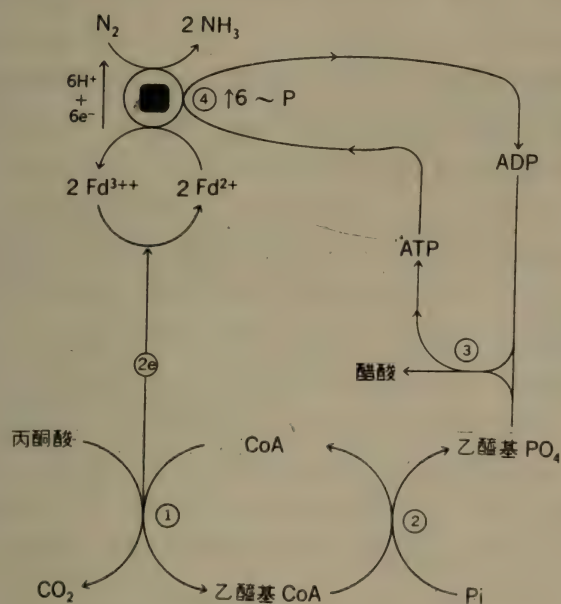
共生固定之基本特性為根瘤 (nodules), 即在植物根上形成者。此根瘤之形成乃藉宿主植物, 一棵豆科植物及細菌總是一種根瘤生物之特殊菌株之聯合作用。既非植物也不是細菌, 一般情形下在二者分別生長時能固定氮的。但有少數根瘤生物菌株能在特殊生長情況下固定氮。植物生長土壤中受細菌之感染, 根之瘤狀物乃發生且能將氮固定。有關一特殊豆科植物及一特殊根瘤菌品種之共生現象 (symbiosis) 已有許多臆測之說。有一個學說設想在共生現象進化過程中, 定氮酶 (nitrogenase) 之合成經過宿主植物進入染色體組 (genomes) 中, 資料便被譯為暗碼矣, 依循格調變化, 此資料藉一種特殊的宿主 mRNA 進至細菌處, 然後隨細菌 (第 16-3.2 項) 乃合成完全的固定氮酶。

16-3.1 自由的生命有機體 (Free living organisms) 直至 1960 年, 許多研究者在得到能固定氮的無細胞的製劑 (cell-free preparation) 完全不能成功上。在這一年, J. E. Carnahan 氏及其團體做歷史性的宣稱首次成功在試管中以一種水溶性糖桿菌 (clostridium pasteurianum) 之萃取物將氮氣還原為氨。此發明想要發生固定作用, 乃加大量丙酮酸於此萃取物中, 於是酮基酸受磷酸解的降解成乙醛基磷酸鹽, CO_2 , 及 H_2 。不久發現此萃取物能分成兩個系統 (圖 16-1)。其一, 氫-給予者成份, 負責電子流之由丙酮酸異化作用經由鐵還原氧化體至稱為定氮酶 (nitrogenase) 之第二成份。此第二成份則參與氮之轉變為氨。

故丙酮酸並不直接參與氮固定作用, 但用做電子及 ATP 之來源。另一重要觀察是定氮酶系統在糖桿菌萃取物中不存在而在 NH_3 環境中成長, 為氮之唯一來源, 雖然氫-給予系統仍正常量的存在。

Carnahan 氏及其同僚的研究, 促使一些研究者從事詳細分析此重要反應系列。結果氮固定的現在知識揭示了未注意此萃取物既非來自嫌氣菌, 需

氧菌，兼性嫌氣菌，藍-綠藻，也不是豆科根瘤，而基本反應組成物是：(a) 一種電子給予者，(b) 一個電子接受者（即氮氣），(c) ATP 及二價陽離子如 Mg^{2+} 在一齊，以及(d) 兩個蛋白質成分。首先，一個鉬（molybdenum），非正鐵血紅素鐵蛋白質（nonheme iron protein）（分子量約 170,000）（鉬鐵還原-氧化體）及一個分子量 55,000 之非正鐵血紅素鐵蛋白質成分〔偶氮鐵還原氧化體（azogerre doxin）（見圖 16-2）〕每個成分單獨時在催化氮固定反應上並無效果，只是結合成一氮固定酶錯合物（nitrogenase complex）。另一奇特結果為對於 ATP 乃特殊需要的。在缺少氮時，電子接受者，ATP



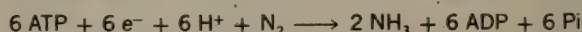
- | | | |
|-----------------|---|--------------------|
| ① 丙酮酸脫羧酶 | } | 氮給予者系統也包括 ATP 產生系統 |
| ② 磷酸轉乙醛基酶 | | |
| ③ 醋酸激酶 | } | 氮固定酶系統 |
| ④ 與還原劑有關之 ATP 酶 | | |
| ⑤ 氮固定酶 | | |

圖 16-1 藉糖桿菌之酶系統還原二氮為氨。酶類 1-3 組成氮-給予者系統及 4-5，氮固定酶系統。

能易於被水解ADP為及無機磷酸（ATP 酶活性），且放出氫氣，其反應為：



此反應總多少與氮固定酶反應有關，因ATP 酶活性在 $-\text{NH}_3$ 生成細胞中不存在，且僅在 N_2 -生長細胞中存在。鉬鐵還原氧化體及偶氮鐵還原氧化體二者均需要。因對於 N_2 之還原為 NH_3 需要6個電子其反應為：



且此結果可解釋Carnahan 氏在其早期研究氮固定時何以需要高濃度的丙酮酸。

現在對於氮固定可寫出一個一般性圖解，這是所有氮固定系統最普通的，包括自由生命體，以及共生的（根瘤）系統（圖 16-2）在內。

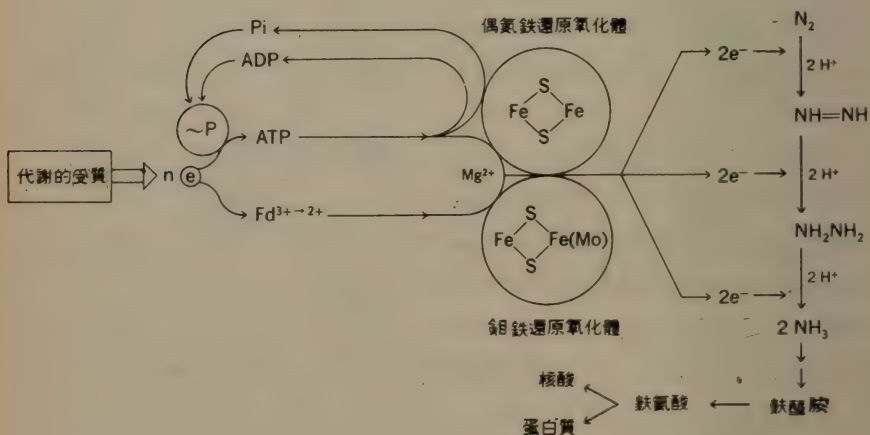
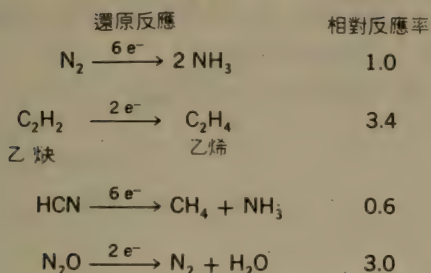


圖16-2 對於氮固定（氮固定酶錯合體）之流程圖：(P)代表一個ATP產生系統。

故，氮固定酶錯合體被一連串瀑瀉的電子（在一非常負的還氧電位）及ATP所還原及活化。此活化偶氮鐵還原氧化體及鉬鐵還原氧化體的錯合體傳遞其電子至一適當的接受者，正常的 N_2 上。若此 N_2 不存在，質子被還原，

則有氫氣釋出，再者，氮固定酶多少並不特殊，因有如下之指示：



此等觀察導致發展一種對氮固定的巧妙微量鑑定法。藉測定被在此標準狀況下之土壤或水樣本將乙炔還原為乙烯之還原率，在分析範圍便能迅即揭示該樣本之固氮本領大小。此資料可為評估不同環境的（細菌的及植物的）因素在 N_2 固定上效果之基礎。此資料轉而在農業實用上有重大價值。

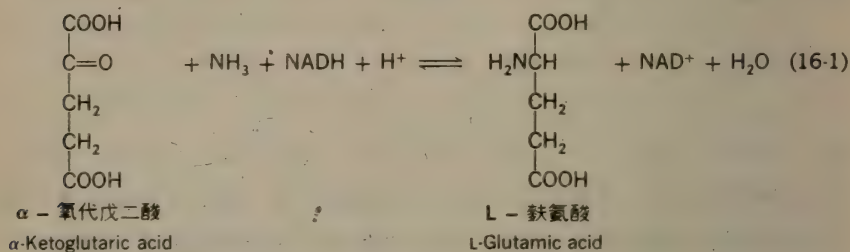
16-3.2 共生的 N_2 固定 (Symbiotic N_2 Fixation) 氮固定的觀念由於研究自由生命有機體諸如糖桿菌，一種嫌氣菌，或偶氮菌(vinlandei)，一種需氧菌，大部分均已獲得。但，共生氮固定，涉及豆科植物及根瘤菌，則是獨特的及生態的對生物學氮固定最重要的貢獻者。豆科類諸如苜蓿，豌豆，黃豆，的根系統均藉自由生命葛蘭姆負性的細菌，根瘤生物之特殊性質所感染。既非植物也非細菌能固定單獨的氮。一旦根瘤生物進入豆科植物根系統之根毛中，便有一系列事故在特殊瘤狀組織中發生了。這種組織稱為根瘤結節 (nodules)，其中發現有原來感染根瘤生物，稱為畸型菌體 (bacteroid) 的，膨脹的，不能動的，不生育的衍生細胞。今此畸型菌體具一完全氮固定酶系統與第16-3.1項所述系統之生化性質非常類似。畸型菌體更含有除氮固定酶錯合體以外的一種色料，稱為豆血紅朊 (leghemoglobin)，能可逆的與氧相結合這與氧及血紅朊之相互關係類似。然後此加氧之豆血紅朊傳遞此氧在低自由氧壓力下至畸型菌體之氧化性磷酸化作用部位上用以產生ATP。相信在此畸型菌體發生的生化事故如圖 16-3 中所示的。

16-4 氮之同化作用 (Ammonia Assimilation)

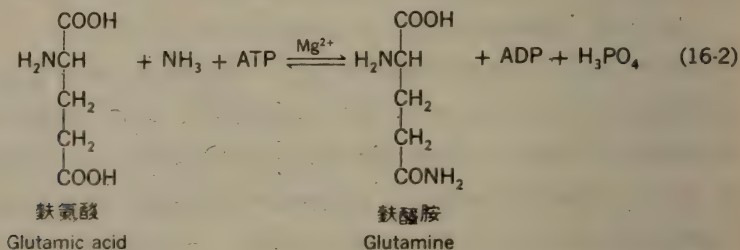
有三種反應能催化 NH_3 之氮原子進入有機化合物中。此等反應乃以麩氨酸

氨酸之代謝作用相關。茲寫出此等反應：

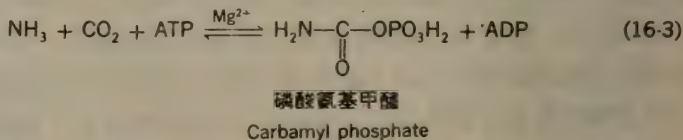
穀氨酸脫氫酶 (glutamic dehydrogenase):



穀氨酸有關ATP之合成酶 (glutamine synthetase):



氨基甲酰激酶 (carbamyl kinase):



被穀氨酸脫氫酶催化之反應已認為是轉變 NH_3 進入穀氨酸之 α -氨基及進而再轉入其他氨基酸（見轉氨基作用，第17-4.1項）之主要機程。但對於 NH_4^+ 對於一些穀氨酸脫氫酶，其不同來源， K_m 之變化為由5至40 mM，便在細胞中已達毒性的濃度程度了。

近來又陳述在大腸菌及其他准核細胞中有一種新的酶稱為穀氨酸鹽合成酶 (glutamate synthase) (方程式 16-4)，乃用 L-穀氨酸做為 NH_3 之間接來源。

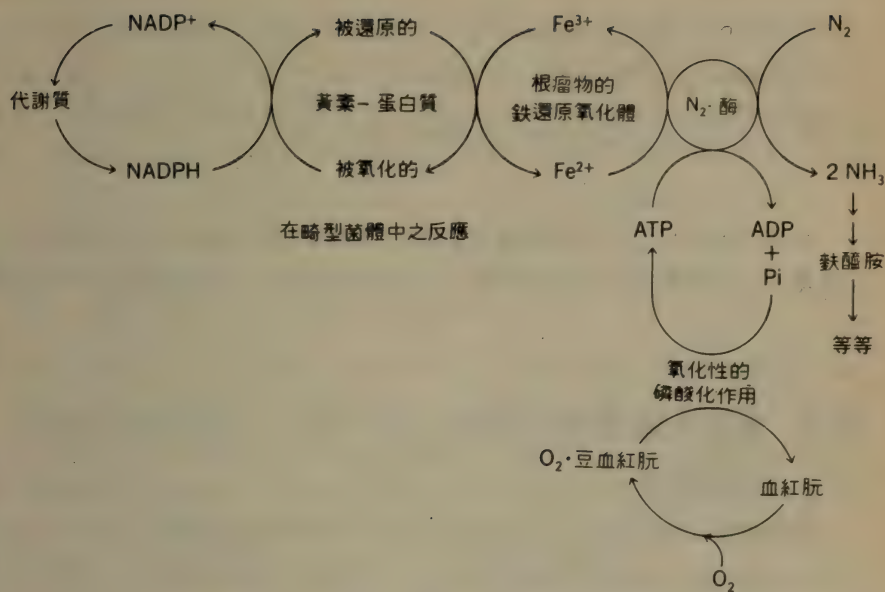
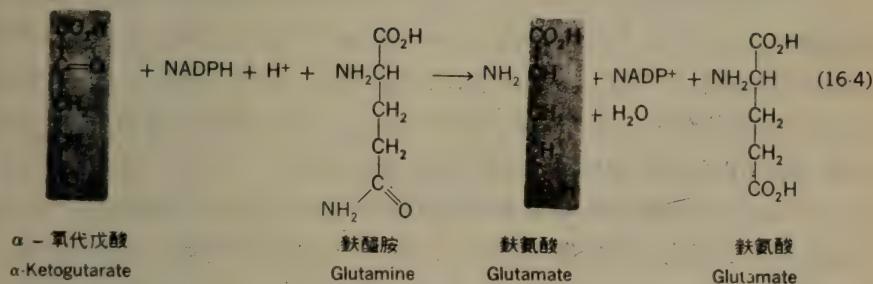
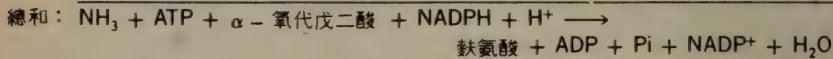
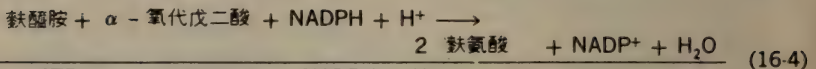
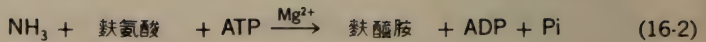


圖16-3 在豆料植物根瘤中固定氮之可能流程圖。



在此反應中麩醯胺用做一氨基氮原子之載體。將方程式 16-2 及 16-4 合併，注意有機體必須在形成一個麩氨酸中消費一個 ATP 及一個 NADPH。且此系統是純粹不可逆的。再者麩氨酸合成酶之 K_m 值對於 NH_4^+ 小於 0.5 mM，且對於麩醯胺則約為 0.3 mM，具麩氨酸合成酶之有機體現在能用較低，無毒性的氮量來做有機氮化物的合成



較高等植物呈現具有鉄氨酸合成酶此酶使用鉄醯胺及被還原的鐵還原氧化體做為一還原劑而不用NADPH。在動物組織中是否有鉄氨酸合成酶尚未證實。

16-5 氮固定酶活性之控制 (Control of Nitrogenase Activity)

控制情形在兩種階段上表現出來。第一種或粗糙的控制 (coarse control) 是有關用氨來抑制氮固定酶的合成。以後會知道在氨環境下，氮固定之停止是快速的。如此之氨在試管中並不直接在氮固定酶上有抑制效果。故在器官中一俟過剩的氨積聚，更多氮固定酶的合成將發生，因氨已被生長的細胞使用，且降至一低階段，結果乃降除抑制，酶合成再合成又開始。

第二種或精細的控制 (fine control) 涉及ADP為氮固定酶之一種競爭性抑制劑。在ADP/ATP比率為0.2時，在試管中的情況將發生53%的抑制作用；在比率為2.0時，則氮固定酶完全被抑制。故在一細胞中ATP濃度降低，則ADP濃度上升，細胞表現氮固定活性中止，則需大量的ATP，對於更精密的細胞功能細胞直接提供有限度的ATP。

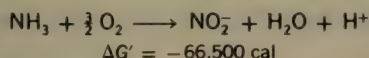
16-5.1 生物的 N_2 固定作用的生態學 (Ecology of Biological N_2 fixation) 發生氮固定作用的器官，利用 NH_3 產生其組織之含氮化合物（蛋白質，核酸，色料）。過度的氮固定了能排洩在土壤中或其他介質中，在其中生成氮的固定物。例如，有證據知豆科植物及赤楊生長在沙地上排出 NH_3 及若干氨酸進入其根部四周之沙中。藍-綠藻也排洩 NH_3 及氨酸與肽類。若 NH_3 排洩在土壤中，則能實行如下所述之硝化作用 (nitrification)，或被其他不能有氮固定作用的生命形式（土壤細菌或高級植物）所利用。若固定的器官是高等植物的，則過剩的固定氮可能被合成為天門冬醯胺或鉄醯胺

且在此形式中儲存之。

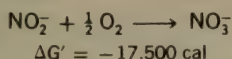
當固定氮的器官死亡時，其細胞之蛋白質乃被水解為氨基酸且被蛻變的細菌透過氨基氧化酶或轉氨基酶類及麩氨酸脫氫酶之作用繼續脫氨。在第十七章將陳述 NH_3 形成之有趣味的反應。顯然非固定的器官其含氮成分也遭遇器官死亡的同一命運。故，土壤之肥沃乃由 NH_3 之獲得，係直接來自氮固定系統及間接來自進入氮固定物之氨基酸及蛋白質循環以後的氮原子。

16-6 硝化作用 (Nitrification)

雖然 NH_3 乃正常在土壤中添加氮的方式，但在土壤中却有少量 NH_3 存在。研究顯示此物迅即氧化為硝酸根離子；後者對非固定氮之生物為其主要的氮源。 NH_3 之氧化由兩組細菌稱為硝化細菌 (nitrifying bacteria) 所完成。第一組稱為亞硝酸菌 (nitrosomonas) 將 NH_3 用 O_2 為氧化劑轉變為亞硝酸：



另一組為硝酸菌 (nitrobacter)，氧化亞硝酸為硝酸：



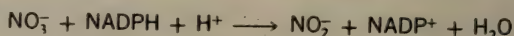
以上二反應均為放能量的，第一種涉及氮由 -3 至 $+3$ ；第二種為二電子氧化作用由 $+3$ 至 $+5$ 。二者之細菌均為自立營養生物 (autotrophs)，細胞構成之碳化合物 (蛋白質，脂質，碳水化合物) 均自行由 CO_2 合成。如前章所述， CO_2 之轉變為碳水化合物需要能量。在光合成中此能由光供應；在亞硝酸及硝酸菌之場合。用於還原 CO_2 為碳水化合物及其他碳化合物所需之能乃由 NH_3 及 NO_2^- 離子分別之氧化作用所供應。因細菌獲得其能量以生長乃由簡單之無機化合物之氧化作用，故稱為化學自養生物 (chemoautotrophs)。

對於亞硝酸菌將 NH_3 氧化為 NO_2^- 過程中間物所知甚少，即在此等細菌中碳化合物之中間代謝之資料亦然。缺乏此方面之知識主要原因乃難於對實驗使細菌有適量之培養。由比較生物化學的立論，可預言碳化合物將承受與前述對動物及其他微生物相似的諸反應。如有獨特之反應可望涉及 NH_3 及 NO_2^- ，

此等化合物對此等細菌之培養均供應能量也。

16-7 硝酸根離子之利用 (Utilization of Nitrate Ion)

以 NO_3^- 為在土壤中最豐富之氮的形式，植物及土壤細菌均發展一種本領能利用此種陰離子做為氮源以應成長及發展之需。在第十五章中曾指出無機氮介入有機的氮主要途徑為被麩酸去氫酶催化的反應。故發現高等植物及微生物能使用 NO_3^- 必須先還原之成為 NH_3 實不足為奇。茲考慮在此程序中有關中間物之資料；例如第一步驟為 NO_3^- 還原為 NO_2^- ，此乃由硝酸還原酶 (nitrate reductase) 所催化者。其反應式為：



硝酸還原酶已由細菌，高等植物（黃豆）及麵包黴菌（*neurospora*）中可提純。每一場合，還原的吡啶核甙酸（DPNH 或 TPNH）之一種均做為還原作用之電子源。此等酶類均為核黃素蛋白質需要 FAD 及金屬鉬為輔因子在反應中承受氧化還原作用。

此程序彷彿在更進一步亞硝酸還原反應重現經過中間物次亞硝酸及羥胺而成 NH_3 ，涉及之此等酶類在完全程序中表示如下：



每個反應涉及添加兩個電子在一氮原子中，此即均由還原的吡啶核甙酸所供應者。故此等反應大多數由生物的還原反應完成之。有證據顯示每種酶需要核黃素核甙酸及一金屬為輔因子。

好氣微生物及高等植物氮之利用及還原硝酸離子為 NH_3 以進入細胞蛋白質中，稱之為硝酸鹽同化作用 (nitrate assimilation)。或難瞭解何以在自然界中 NH_3 易氧化為 NO_3^- ，而必須在進入氨基酸前再還原為 NH_3 。誠然，

有一優點，乃 NO_3^- 較揮發性 NH_3 之為更安定之形式，雖然 NH_3 很可能以 NH_4^+ 在中性及酸土壤中存在。第二優點氮分子較多毒性，故不能如此儲存組織中，而硝酸鹽相對的無毒性，在植物樹汁中能大量積聚。

許多微生物，包括大腸菌及枯草菌（*E. Coli* and *B. subtilis*）爲了其他目的還原 NO_3^- 或 NH_3 ；使用 NO_3^- 爲最終電子接受體以代替 O_2 。 NO_3^- 具有高的氧化還原電位在pH 7.0時爲0.96V，能在有機受質氧化期間接受釋出之電子。因爲 NO_2^- ， $\text{N}_2\text{O}_2^{2-}$ 及 NH_2OH 均在硝酸鹽同化作用中爲中間物，但此程序稱爲硝酸鹽呼吸作用（nitrate respiration），再者所涉及之酶類均爲細胞之不溶解物質（細胞壁，細胞質內之網狀構造）密切結合。在*Achromobacter fischeri*場合 NO_3^- 之還原作用已與被還原的細胞色素c之氧化作用聯合；在一個細胞色素環境中電子傳遞系統寧與 NO_3^- 作用而不與 O_2 作用之事實，在此證實。許多細菌如去硝假單胞菌（*pseudomonas denitrificans*），反硝化細菌（*denitrobacillus*）等，可行硝酸呼吸作用產生 N_2 而非 NH_3 。在此場合氮原子再回返大氣層中。此種程序稱爲脫氮作用（denitrification）。有關酶系統之脫氮資料甚少。

氮循環組成氮循環之各種程序在圖 16-4 中以圖解說明之。

16-8 硫循環（The Sulfur Cycle）

硫原子及氮原子二者之生物化學間有許多類似之處。因在許多基本生物化學的化合物中有硫存在，此元素之代謝作用要簡短陳述之。

硫原子在許多無機形式中存在的有硫酸鹽（ SO_4^{2-} ），亞硫酸鹽（ SO_3^{2-} ），硫代硫酸鹽（ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ），元素硫（S），以及硫化物（ S^{2-} ）。此等化合物的氧化態範圍由硫酸鹽之+6至硫化物的-2，硫原子在能進入有機的結合前必須先還原爲硫化物（ H_2S ）的程度。當硫原子由有機結合中釋出時，能被土壤組織所氧化成其最高的氧化態（ SO_4^{2-} ）。自然，可以說是在自然界中的硫循環且可鑑別此循環之某些景象。

16-8.1 硫酸鹽活化作用（Sulfate Activation） 硫酸鹽陰離子可被植物及動物所利用而在自然界中成多種硫酸酯類——類固醇類（steroid）及動物之酚硫酸酯，膽鹼硫酸鹽，多糖類硫酸鹽〔軟骨素（chondroitin）硫酸鹽及肝素（heparin）與藻類〕在能利用之前硫酸鹽陰離子必須先活化，與磷酸鹽之活化類似。有兩種步驟，第一形成5'-磷硫酸腺苷（adenosine-

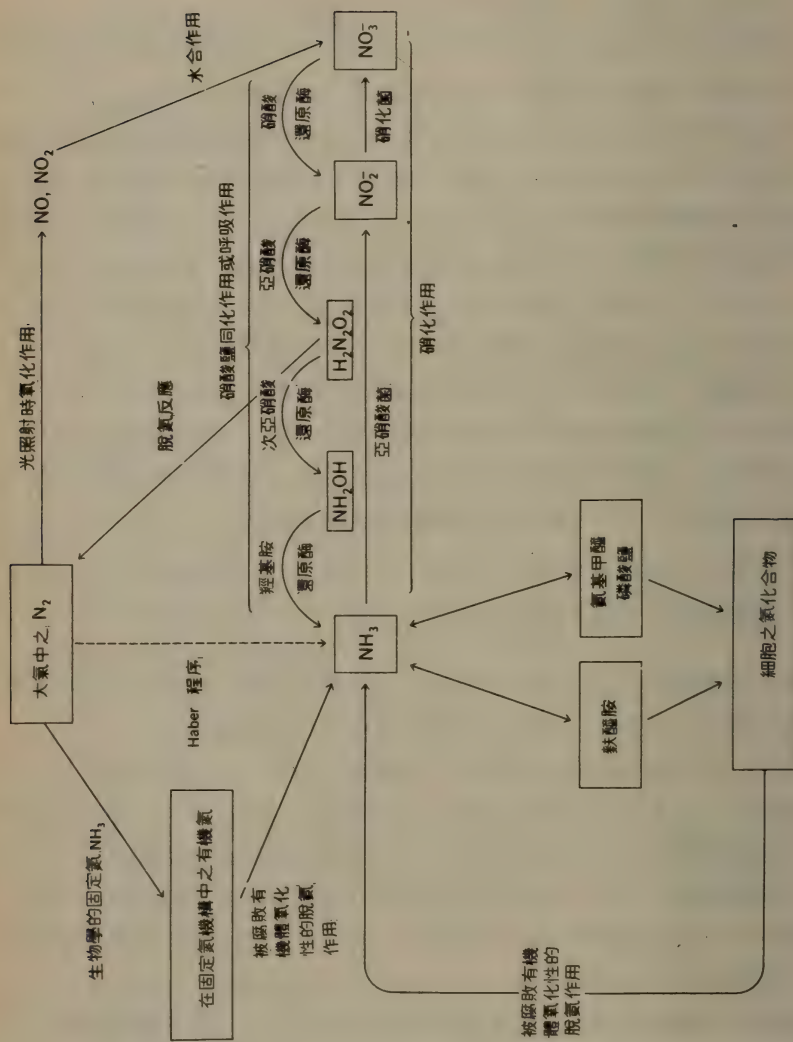
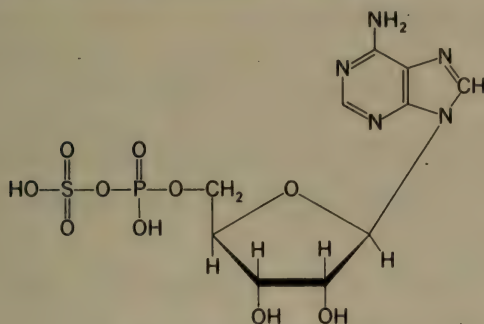


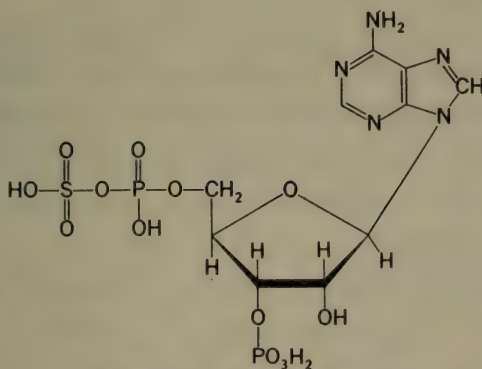
圖16-4 氮循環。

5'-phosphosulfate, APS), 隨即轉變為 3'-磷酸-5'磷硫酸-腺甙(adenosine-3'-phosphate-5'-phosphosulfate, PAPS)。



5'-磷硫酸-腺甙 (APS)

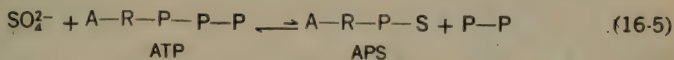
Adenosine-5'-phosphosulfate
(APS)



3'-磷酸-5'-磷硫酸-腺甙 (PAPS)

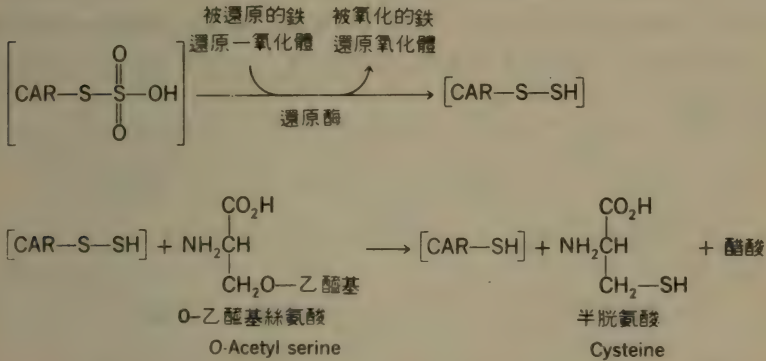
Adenosine-3'-phosphate-5'-phosphosulfate
(PAPS)

被 ATP 硫磺酶 (ATP sulfurylase) 催化的起始反應與脂肪酸類或氨基酸類之羧基活化作用類似, 其中 ATP 之腺甙酸部分傳遞至硫酸鹽處且生成無機的焦磷酸鹽:



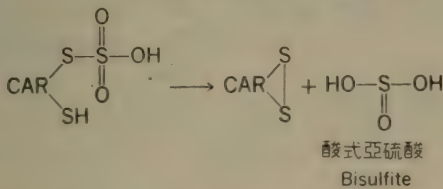
對此反應之平衡非常不利於 APS 之形成, 因磷-硫酸鹽無水物 (酐) 之

在光合性藻類及較高等植物場合，載體蛋白質-硫代硫酸鹽加合物（carrier protein-thiosulfate adduct）被鐵還原氧化體還原而產生一種二硫醇載體（dithiol carrier），此物然後將其最外被還原的硫原子給予O-乙酰基絲氨酸（O-acetyl serine）而成為半胱氨酸（cysteine）：

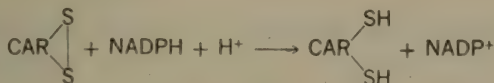


此程序之細節的研究是有困難的，乃因尚有不知性質的與酶束合的中間物。

在二硫醇載體的場合，硫酸鹽加合物遭遇一內在的氧化還原反應，可放出酸式亞硫酸鹽（bisulfite），其硫之氧化數為+4：



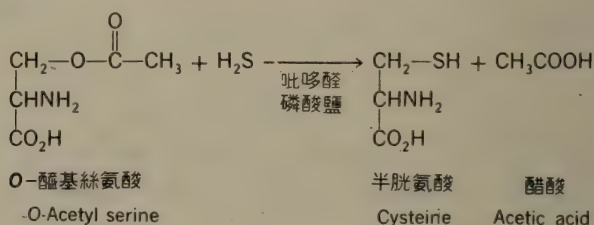
然後蛋白質之二硫化物形式被NADPH還原為二硫醇形式，且另一個新的PAPS分子能反應而被還原：



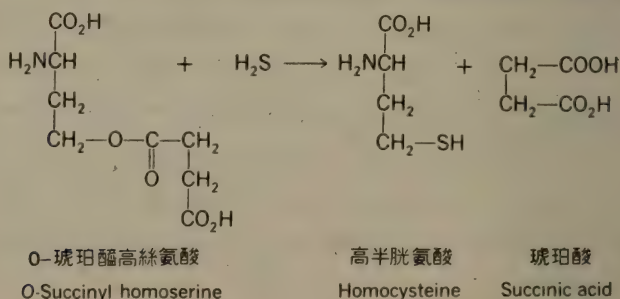
於是上述產生之亞硫酸（或酸式亞硫酸）更進一步被一酶錯合體稱為亞硫酸還原酶還原為 H_2S 。此還原反應總共需要6個電子，即由3莫耳NADPH供應。但全部反應尚不清楚，其式為：



16-8.3 H₂S 之併入有機化合物 (Incorporation of H₂S into Organic Compounds) 微生物及較高等植物，在 H₂S 來源環境下，能使用此化合物造成半胱氨酸。負此責之酶稱為“半胱氨酸合成酶”(cysteine synthase)。此酶需一種“活化”形式的絲氨酸，這是用乙醯基-CoA 將絲氨酸乙醯化而成的。乙醯基是一種良好的離出基，此物能易於被 H₂S 取代而形成半胱氨酸。



一類似的反應涉及高絲氨酸(例如 O-琥珀醯基高絲氨酸)及 H₂S 之形成高半胱氨酸即藉一種在較高等植物及若干細菌中發現且分離出之酶所催化的：



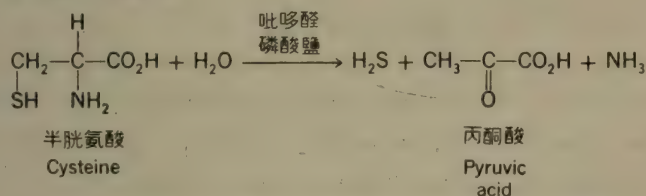
16-8.4 半胱氨酸之為一原始硫源 (Cysteine as a Primary Sulfur Source) 半胱氨酸在植物及微生物中為了形成甲硫基丁氨酸(methionine)做為原始的硫之來源。在第 17-11 節中要陳述在此程序中之中間物即胱硫醚(cystathionine)及高半胱氨酸，而需要兩種酶為胱硫醚合成酶 I (cystathionine synthase I) 及胱硫醚酶(cystathionase)。在動物中由甲硫基丁氨酸合成半胱氨酸也將在第十七章討論。

16-9 硫酸鹽呼吸作用 (Sulfate Respiration)

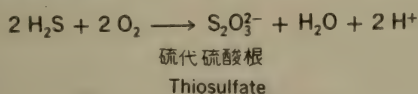
在酷似硝酸鹽呼吸作用中，硫酸鹽能做為一種對嫌氣菌（即脫硫弧菌）之終止氧化劑。作用時，硫原子被還原之步驟由 SO_4^{2-} 至 S^{2-} 即藉在被細菌氧化之有機受質中之電子。假設有一電子傳遞鏈鎖與在需氧細胞中所涉及的及 ATP 形成電子所經過的鏈鎖類似。

16-10 由有機化合物釋出之硫 (The Release of Sulfur from Organic Compounds)

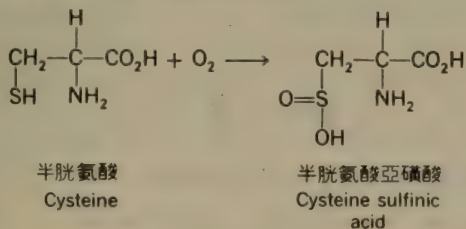
動，植物，以及許多微生物含有半胱氨酸脫氫酶（cysteine desulfurylase）可催化如下之反應：



然後如此產生之 H_2S 被一種在土壤組織中發現的硫化物氧化酶（sulfide oxidase）錯合體所氧化：

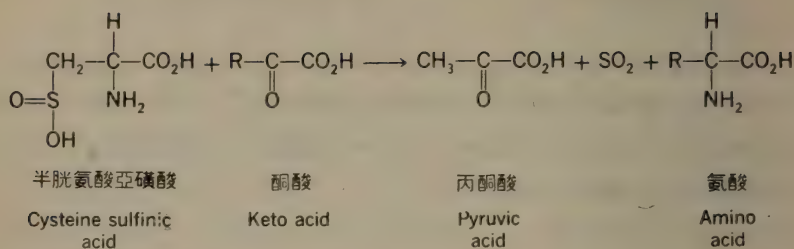


硫原子亦能被氧化而留存有機組合中；負此責之酶為半胱氨酸氧化酶；且產生半胱氨酸亞磺酸（cysteine sulfinic acid）



此反應與氨酸代謝中者不相似，能被轉氨基化而產生丙酮酸， SO_2 ，以及氨

酸：



此生成之 SO_2 易為空氣氧化為三氧化硫於是在自然界中完成硫的循環。

因硫是生命形式中包括在六大豐富元素之內，故在生命層（biosphere）中為此元素之守恒而此等形式之已經發展的機程是不足驚奇的。

參 考 文 獻

1. J. R. Postgate, ed., *Chemistry and Biochemistry of Nitrogen Fixation*. New York: Plenum Press, 1971.
是一本有關所有專家論文各種題材的優良總彙編。
2. A. B. Roy and P. A. Trudinger, *The Biochemistry of Inorganic Compounds of Sulphur*. Cambridge: Cambridge University Press, 1970.
此論題的最近論述。
3. J. A. Schiff and R. C. Hodson, *The Metabolism of Sulfate*. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **24**, 381 (1973).
4. H. Dalton and L. E. Mortenson, *Dinitrogen (N_2) Fixation*, *Bacterial. Rev.* **36**, 231 (1972).

習 題

1. 說明丙酮酸在生物學氮固定作用中之任務。
2. 對如下各項下定義：(a)硝化作用（nitrification），(b)脫氮作用（denitrification），(c)氮固定（nitrogen fixation）。

3. 試對“硝酸鹽同化作用”(nitrate assimilation)及“硝酸鹽呼吸作用”(nitrate respiration)之區別。
4. 就對於ATP, 還原能力, 以及作用如“巨大輔酶”之低分子量蛋白質之參與情形比較硝酸鹽同化作用及硫酸鹽同化作用。
5. 在微生物中硝酸鹽還原作用的兩種生理功能為何?
6. 在動植物半胱氨酸及甲硫基丁氨酸之相互轉變的比較及對比。
7. 在半胱氨酸之生物合成中什麼是絲氨酸的乙醯基化作用的功能?
8. 試寫出半胱氨酸經由用 H_2S 為硫來源(即其在一植物或微生物中存在)之合成被酶催化的反應並均衡之。
9. 半胱氨酸在生物合成途徑中絲氨酸行使之乙醯基化作用其任務為何? 說出兩種理由或功能。

第十七章

氮及含氮聚合元之代謝作用

The Metabolism of Ammonia and Nitrogen-Containing Monomers

目標 繼續討論可缺少的及不可缺少的氨基酸類性質，再介紹氨基酸之一般反應——氨基移轉作用 (transamination)，脫氨作用 (deamination)，以及脫羧基作用 (decarboxylation)。由脫氨作用衍生的碳架構，其命運如何要陳述。然後討論氨基酸之介入有機氮化物中及含硫氨基酸之代謝作用。尿素循環與氮排洩之比較生物化學亦一併敘述。此物質對於瞭解氨基酸及轉而為蛋白質的基本代謝作用有基本重要性。本章以陳述嘧啶類 (pyrimidines) 及嘌呤類 (purines) 之生化合成途徑構成無所不在之核酸類為其結論。

17-1 引言 (Introduction)

氨基酸類及嘌呤與嘧啶核甙酸類共享一事實即均為含氮的物質能構築成大的有資料性的分子——蛋白質及核酸。高等植物及許多微生物為合成此等硝酸根離子形式的化合物，需要有規律的獲得氮。植物及大多數微生物為了合成氨基酸，蛋白質，以及核酸，其有價值的氮來源也有使用 NH_3 的。然則高等動物為合成其含氮化合物也使用 NH_3 ，但動物之主要氮源為蛋白質來自飲食之消費中。蛋白質水解為氨基酸是藉胃腸管道中之酶類，且被吸收進入血液中再傳遞至肝臟內。此器官移一部分氨基酸為特殊的生物合成工作，而其餘的經過外肝組織 (extra-hepatic tissues) 能被合成為蛋白質。肝臟是許多血液蛋白質 (血漿血朊，球蛋白，血纖維朊原，以及凝血酶原) 之合成部位。也能為了蛋白質合成在肝之額外需要中代謝任何氨基酸轉變為氮原子進入尿素及碳架構進入早先在碳水化合物及脂類代謝中之中間體內。有關廿餘種氨基酸之詳細代謝作用已知在大多數蛋白質中存在，此處只討論利用所有氨基酸之一般反應及在形成尿素，嘌呤類與嘧啶類中 NH_3 之任務。

17-2 氮均衡之研究 (Nitrogen Balance Studies)

研究氨酸及蛋白質之中間代謝為營養學研究之起始。Csborne 及 Mendel 兩氏在 1914 年證明成長期之鼠需要飼以色氨酸 (tryptophan) 及二氨基己酸 (lysine) 又稱類氨酸。嗣後，伊里諾大學之 W. C. Rose 氏謂有八種氨酸為成長及發育中之鼠所需要。第二次大戰對驗明人類需要之氨酸提供刺激及研究的發現，因當時有男性志願者願做實際實驗以高度精製之氨酸用克之量服食。此等實驗乃使被實驗者保持其氮平衡 (nitrogen equilibrium)，證明二氨基己酸，色氨酸，苯基氨基丙酸 (phenylalanine)，息寧氨酸 (threonine)，氨基異戊酸 (valine)，甲硫氨酸 (methionine)，白氨酸 (leucine) 以及異白氨酸 (isoleucine) 等均為“不可缺少的氨酸”(indispensable amino acids)。

一個體 (人類或其他動物) 每日在食糧中消耗的氮等於排洩出之氮量稱之謂在氮的平衡情況。前者可測定尤其若該食糧為一合成物乃由一混合氨酸組合的，至於排洩之氮則由尿及糞中可查明。一“成年”動物可維持氮平衡量以最低代謝需要之氮量供應此氮量。但此氮不能僅簡單的供應 NH_3 ，而必須成為不可或缺的氨酸形式之氮化合物。若在食糧中減除各該氨酸中之一種，則該動物將分解組織蛋白質以應需要，則將進入負的氮素均衡狀態，即謂在尿及糞便中排洩之氮即超過食糧中之量。若減除之氨酸重行供應則再達氮的平衡。

寒熱及疾病衰弱使個體呈負的氮均衡即個體食糧氮素分量之不適當。換言之，一成長動物繼續增長其身體蛋白質量將保持其氮的正性均衡，即攝取之氮多於排泄之氮。

在不可缺少的氨酸營養實驗上有二重要結論；第一顯然動物不能製造氨酸，至少對其所需之量如此。試問是否動物缺乏製造不可缺少的氨酸碳架構的能力？此答案似為“是”，若對一動物飼以缺乏苯基氨基丙酸之食糧，均供應苯基丙酮酸 (phenylpyruvic acid)，即一種苯基氨基丙酸之類似酮質，且為其他必須氨酸形式之額外氮素，則又可進入均衡。此等結果說明並非供應氮之問題，而不如說碳架構之合成問題。在此場合為苯基氨基丙酸，其困難為合成芳香圈氨酸之問題。故應包括高等動物所不易合成的某些碳架構形式。

第二，動物必須之氨酸僅約天然氨酸之半數，顯然動物亦能合成其餘的氨酸即所謂“非必須的氨酸”合成問題不僅涉及碳架構之製造，且亦包括由食糧氨酸傳遞原子至非必須氨酸。氮原子之傳遞伴生氨基移轉作用，為氨酸之一般反應均涉及許多氨酸之分裂及合成。

17-3 氮化合物之動力學的代謝作用 (The Dynamic Metabolism of Nitrogen Compounds)

直至1930年初，體蛋白質 (body proteins)，與碳水化合物及脂類適為對比，視之為相當鈍的代謝物質。一俟在細胞內合成相信就完整的留存在體內直至動物或植物發生死亡事故，且起始即營腐敗程序。易瞭解何以此觀念在蛋白質場合中是很流行的，適與體脂類（及碳水化合物）成對比，其量在動物中顯然與動物的營養狀態有直接的變化。在過剩卡路里集聚過程中發生脂肪澱積而脂肪之枯竭是飲食缺乏卡路里所致。相反的，體蛋白質為能量產生不被動物使用直至所有其他儲存均已枯竭且極端飢餓為止。

R. Schoenheimer 氏及其同工在1930年實行一系列實驗才戲劇性的修正了此觀念。他們發現以同位素氮 (^{15}N -氮) 標識之氨酸飼養成年之鼠及小鼠，可望此等動物在氮均衡中氧化了飲食的氨酸且排洩標識的氮。但却見同位素引入蛋白質或肝臟（一種在合成蛋白質方面非常活潑的器官）以及其他組織也一樣。再者標識不僅在原來所施之氨酸中，而且也在許多其他氨酸中發現。由一氨酸至許多其他氨酸標識之傳遞可望看做是能夠催化此交換的氨基移轉酶乃廣泛存在的。在大小上從未增大的動物蛋白質中發現同位素是想不到的，故使 Schoenheimer 氏的一結論即動物蛋白質，也和脂質及碳水化合物一樣均為“動態的”而非“靜態的”。他倡言在一成年不再成長的動物中，則蛋白質之相當高的合成速率與同等高的破裂率是一逆向均衡的 (counter-balanced) 且此二者在動物中對此等分子提供活潑的代謝的轉變。Schoenheimer 氏的研究引起一種在蛋白質場合中有氨酸及 NH_3 之代謝池 (metabolic pool) 或代謝地帶的觀念，其起始源淵則無法詳細說明了。此等代謝池之成分對於體蛋白質之再合成可能使用之。

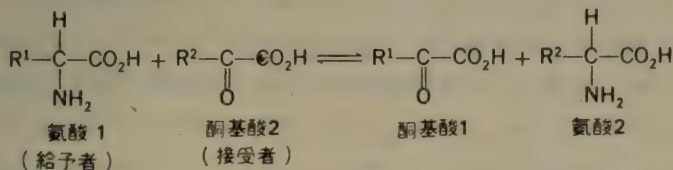
應着重在動物蛋白質分子在其轉變率上是不相同的。血液，肝臟，腎臟，以及其他生命器官的蛋白質均有半生命 (half-lives) (即對此蛋白質進入代

謝池一半所需的時間)範圍由2至10日。紅血細胞之血紅朊(hemoglobin)半生命約為30日,肌肉蛋白質180天,及骨膠原(collagen)1000天。對於成年人體重每kg每日蛋白質之消耗率為1.2g。由此蛋白質有¼的氨酸受氧化性降解,且必須由飲食中取代此蛋白質。因降解氨酸約有半數為不可缺少的,可以瞭解對於含有適量不可缺少的氨酸之飲食是必需的。

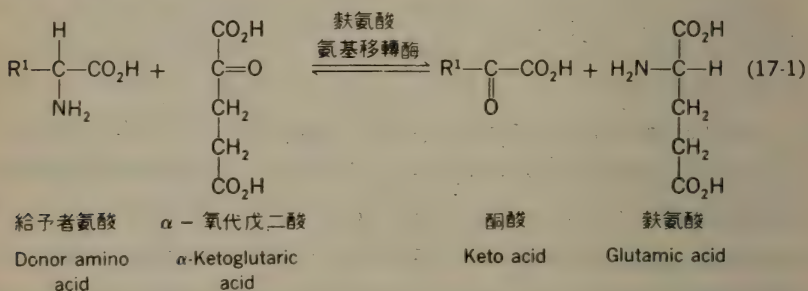
世界面對主要營養問題之一是對於人類飲食的蛋白質如何提供一適當之量(含有基本重要氨酸的意義)。碳水化合物,在植物澱粉形式一項中,是易於由主要食物穀類——米,玉蜀黍,小麥,以及樹薯(casava)——中取得的,但適量之蛋白質補充更難獲得。在消費肉類蛋白質的國家這問題並不顯著,因此等蛋白質含有基本的氨酸。但,世界上大多人民靠植物糧食維生,且若蛋白質量不高或不適合(例如玉蜀黍及米中有低含量賴氨酸)。則此飲食是低劣的了。成長中的兒童特別感到缺乏蛋白質這真是悲劇,因他們在成長,他們需要正性的氮均衡(positive nitrogen balance),嬰兒由其母哺育一直獲取其蛋白質在量及質上均適當,但稍大的兒童已為新嬰兒取代,不適當的植物性飲食有顯著的影響了,於是一種嬰兒蛋白質缺乏症,又稱“紅毛兒”或“棄哺兒”(kwashiorkor)疾病發展,病徵是胃膨脹,毛髮及皮膚變色,且一般性病弱。這種兒童對正常一般疾病及環境中之感染抵抗力均弱,在短暫生命中便往往夭折了。

17-4 氨酸之一般反應 (General Reactions of Amino Acids)

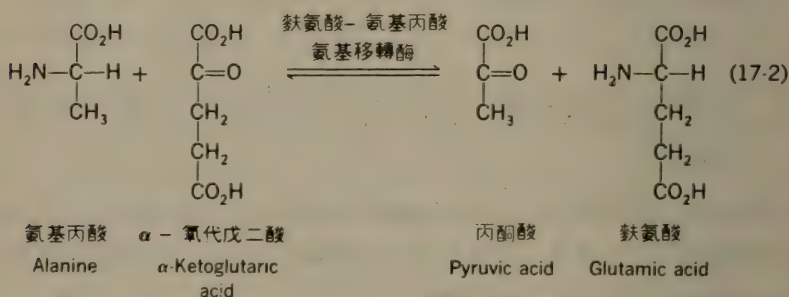
17-4.1 氨基移轉作用 (Transamination) 氨基移轉作用之反應涉及由一氨酸將其氨基傳遞至一酮基酸(碳架構)而成一同系的氨酸及產生一個原來氨基給予者之酮酸(碳架構)。



已有報導謂氨基移轉酶 (transaminases) 能幾乎與所有的氨酸化合，但特別重要的是**穀氨酸氨基移轉酶** (glutamic transaminase) 及**氨基丙酸氨基移轉酶** (alanine transaminase)。前者之酶特別對於**穀氨酸**及 **α -氧代戊二酸**做為兩個“受質對”之一種，幾與所有其他蛋白質性的氨酸反應，但反應時反應率不同。



同樣，**氨基丙酸氨基移轉酶**特別對**氨基丙酸**及**丙酮酸**為其“受質對”之一，但亦幾乎與所有其他氨酸反應。最後，有一種高度特殊的**穀氨酸-氨基丙酸氨基移轉酶** (glutamic-alanine transaminase)，在許多器官中發現，可在此等兩氨酸間催化氨基移轉反應 (反應 17-2)

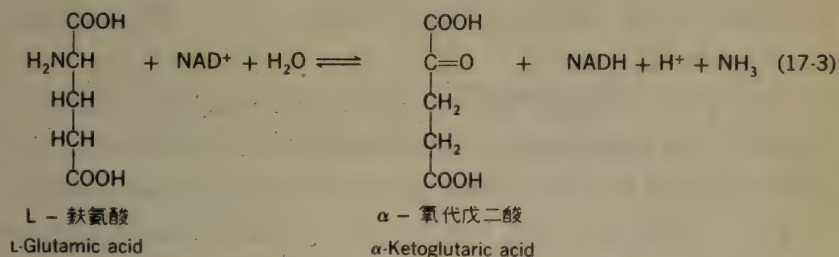


藉此氨基移轉酶之催化反應，其平衡常數如所企的約為 1.0，故此反應易於可逆的進行。氨基移轉酶類需要**磷酸吡哆醛** (pyridoxal phosphate) 為輔酶，且在此酶環境下，此輔酶與氨酸形成一**Schiff 氏鹽基**。藉廣續的電子重組 (見第 8-8.3 項) 氨基傳遞至輔酶成為**磷酸吡哆胺** (pyridoxamine phosphate)。然後後者與接受者酮酸化合成再生的**磷酸吡哆醛**及產生一**氨酸**。

若瞭解反應 17-1 (或氨基丙酸氨基移轉酶與反應 17-2 在一齊) 做為集合許多其他氨基酸之氨基為麩氨酸, 便知氨基移轉作用之重要意義了。此等反應原來在細胞質中發生, 且為麩氨酸能特別透過內線粒體膜而進入線粒體之基質中 (圖 14-7)。它能與一線粒體的天門冬酸氨基移轉酶再度氨基移轉或却以線粒體的麩氨酸脫氫酶作氧化性的脫氫。(在次節中要陳述麩氨酸之脫氫作用且討論氨基移基作用及脫氫作用之聯合程序的意義)。故氨基移轉酶類同時在細胞質及真核的細胞線粒體中發現, 在細胞中此類酶各有其特性。

17-4.2 脫氫作用 (Deamination)

17-4.2.1 藉麩氨酸脫氫酶 (By glutamic dehydrogenase) L-麩氨酸在代謝反應中為關鍵性角色, 因普遍的存在一種“麩氨酸脫氫酶”此酶催化可逆的氧化性脫氫作用即藉 L-麩氨酸之 NAD^+ 形成 α -氧代戊二酸, NH_3 , 以及 NADH :

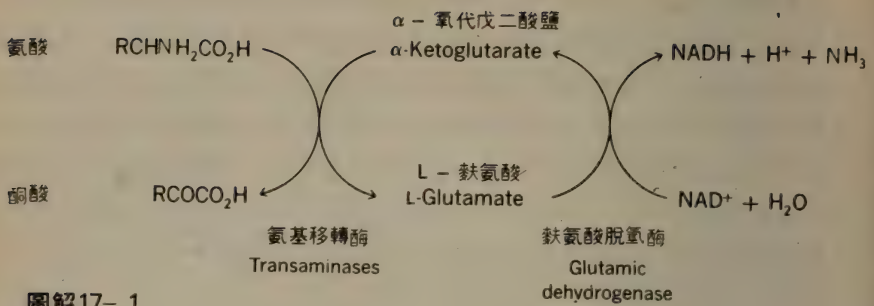


此肝臟酶不是用 NAD^+ 便是用 NADP^+ 來發生功能, 且在線粒體中存在。

反應 17-3 易於可逆的, 且在 NAD^+ 及 NADP^+ 濃度相等時, 此平衡實際上利於麩氨酸的合成。但對於 NH_3 (1-5mM) 需要相當高的 K_m 才能藉線粒體的電子傳遞系統用 NADH 迅速的再氧化來逆轉進行, 設想麩氨酸脫氫酶在麩氨酸氧化及 NH_3 產生的方向內為主要的功能。

反應 17-3 與麩氨酸之氨基移轉作用 (反應 17-1) 偶聯乃產生一機程可對所有其他氨基酸行脫氫作用 (圖解 17-1)。

在此方式中產生之 NH_3 為毒性的, 必須處理之。在動物中精巧的安排脫除毒性的機程 (見尿素循環, 第 17-7 節)。在植物中, 因缺少動物的排洩器官, 此 NH_3 再轉變為不毒性的醯胺, 麩醯胺 (glutamine) 及天门冬醯胺 (asparagine) (第 17-6.1.1 目), 具有堪注意的此等化合物高濃度的積聚。羽扇豆 (lupine) 種子含豐富蛋白質, 發芽時能積聚天门冬醯胺高達乾重量

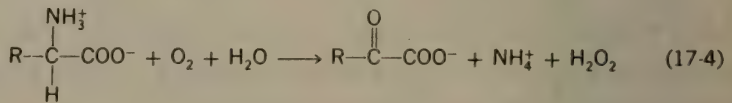


圖解17- 1

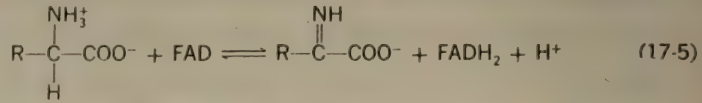
的 20%。

因在其他氨基酸之代謝作用中之重要性，也和穀氨酸做為脯氨酸及鳥氨酸之先質一樣，〔故亦間接的為羥基脯氨酸，瓜果氨酸，以及精氨酸之先質（見第 17-7 節）〕。所以讀知穀氨酸脫氫酶為一反效酶（又稱別樣立體酶, allos-teric enzyme）時不會訝異的。例如牛肝臟酶為 ATP 及 NADH 所抑制，而為 ADP 及 AMP 所刺激。

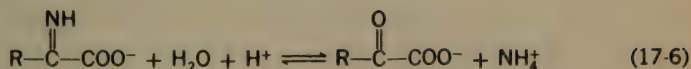
17-4.2.2 藉氨酸氧化酶（By amino acid oxidase） 氧化性脫氨反應亦可被一組核黃素酶類稱為氨酸氧化酶（amino acid oxidase）者所催化。1935 年，Krebs 氏謂腎臟及肝臟切片可由不同氨基酸中催化而生成 NH_3 ，且消費氧。以後更證實，氨酸之兩種消旋混合物對掌體均顯示可被上述切片作用，且此催化 D-異構體的氧化性脫氨作用的酶是可溶解的。該反應之詳情由綿羊腎臟部分精製的 D-氨基氧化酶揭露出來；其全反應為：



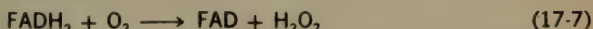
此酶需要 FAD 為輔基（prosthetic group），且此反應不易逆轉。全反應可分為若干個別步驟，均有實驗地證明，在第一步驟中氨酸之氧化作用導生相當的亞氨酸（imino acid）



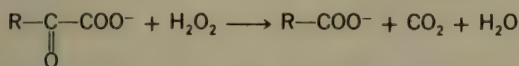
該亞氨酸在 H_2O 環境下自行水解：



生成之還原核黃素再被一分子氧再氧化而得 H_2O_2



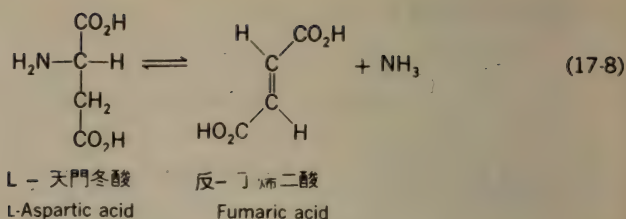
此最後之反應，即 O_2 之氧化 FADH_2 為不可逆的。故雖然反應 15-4 及 15-5 均為可逆的，而全反應 17-4 乃 17-5 直至 17-7 諸反應之總和却為不可逆的。在高純度酶中不含破壞 H_2O_2 之雜質則反應程序更進一步。在有 H_2O_2 之場合，即在反應 17-7 中為非酶性的與酮基酸反應。



最近研究之顯示，肝臟之 D-氨酸氧化酶乃局限在稱為過氧體之微粒體（第 9-10 節）中，與若干其他用 O_2 為氧化劑之氧化性酶類在一齊。此 D-氨酸氧化酶之功能仍未明瞭，雖然 D-氨酸在自然界存在量僅限於肽糖（peptidoglycans）及環狀肽類。

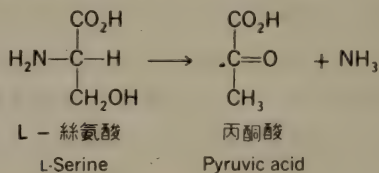
動物組織中也含有 L-氨酸氧化酶能氧化各種 L-氨酸，腎臟及肝臟之 L-氨酸氧化酶與細胞質內網狀結構密切聯繫。其活性如此低弱以致對其生理的效能亦有疑問。D-氨酸氧化酶已在一種微菌名粗糙鏈孢菌（*neurospora crassa*）中發現，且 L-氨酸氧化酶已由蛇毒莫氏普通變性桿菌（*proteus vulgaris*）及鏈孢菌（*neurospora*）中精製。此後者之酶不似動物組織之酶，顯然對大多數氨酸之氧化性脫氨作用提供途徑或者在細菌及菌類（fungi）用於分解氨酸為 NH_3 ， CO_2 及 H_2O 反應之第一個步驟中。因反應為不可逆的，故此酶在氨酸生化合成中並不有效。

17-4.2.3 藉氨之加成消去作用（By ammonia lyases） 與氧化性脫氨作用之反應成對比者為非氧化性脫氨基程序。一種非氧化性脫氨之型式為被 α -脫氨基酶（ α -deaminase）催化之反應。天門冬酶（aspartase）亦屬此酶類，可催化如下反應：



此酶，尤其對L-天門冬酸及反-丁烯二酸最有效，乃由大腸菌及其他微生物中發現者。其催化反應易於逆轉，故此反應猶如一被穀氨酸去氫酶催化之反應，構成一機程將無機氮的 NH_3 併入一引證的有機體中之氨基酸的 α -氨基位置上。其他 α -脫氨基酶催化組織氨酸 (histidine)， β -甲基天門冬酸 (β -methylasspartic acid)，苯基氨基丙酸及乾酪氨酸 (tyrosine) 等。但此等反應與反應 17-5 成對比，均為不可逆的。故在催化脫氫的氨基酸生物合成中無意義。

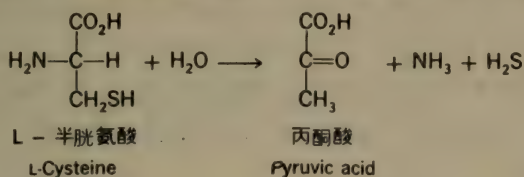
17-4.2.4 藉特殊之脫氨基酶 (By specific deaminases) 尚有一種稍有不同之脫氨基作用型式為在肝臟中之一種脫水酶 (dehydrase)，系統化命名為L-絲氨酸-氫的-加成消去酶 (脫氨作用) [L-serine-hydro-lyase (deaminating)]。尤其對L-絲氨酸有效。該反應涉及失去 $-\text{NH}_3$ ，且重行排列剩餘的原子為丙酮酸：



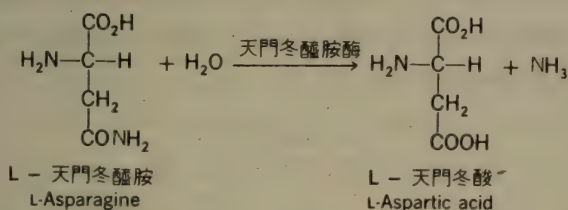
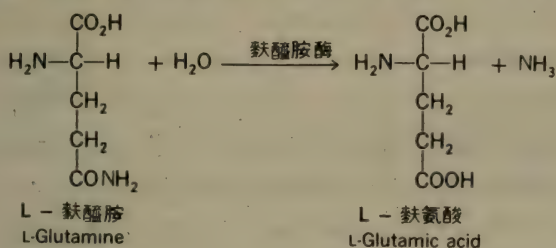
原來以為此乃氨基丙烯酸 (amino-acrylic acid) $\text{CH}_2=\text{C}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$ 及其異構物，一亞氨酸 (imino acid) $\text{CH}_3-\text{C}(=\text{NH})\text{COOH}$ ，在此程序中為中間物。以後證明此酶需要磷酸吡哆醛 (pyridoxal phosphate) 為一輔酶，且此輔酶之具氨基酸 Schiff 氏鹽基 (見第 8-8.3 項) 相信其為中間物。一相同之脫氨基作用為被息寧氨酸脫水酶所催化之L-息寧氨酸。而產生 α -丁酮酸 (α -ketobutyric acid)。最後半胱氨酸之脫氨基作用乃被一種由動植物及微生物中發現的酶所催化。

此酶為半胱氨酸脫氫硫基酶 (cysteine desulfhydrase) 亦需要磷酸吡

嘧醛爲一輔酶，且大致以相同於絲氨酸去水之機程操作之，其全反應爲：

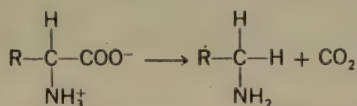


17-4.2.5 羧脫酰胺酶 (By deamidases) 除上述各反應，乃是氨基酸類之 α -氨基之釋出爲 NH_3 外，尚有麩酰胺及天門冬酰胺之酰胺的氮釋出爲 NH_3 之各反應。尤其水解的酶類催化此等二種酰胺之水解而產生 NH_3 ：

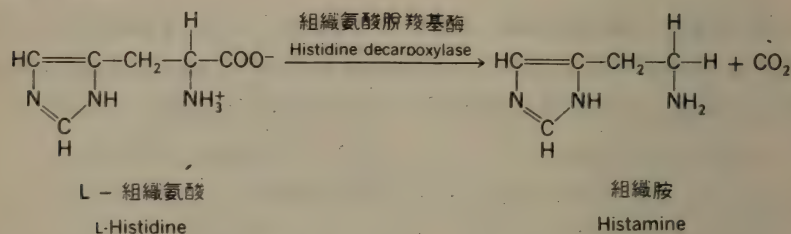


麩酰胺在氮代謝作用中有一中心任務即爲氨基之先質 (第 20-5.1 項)。亦可用於傳遞及儲存 NH_3 在排洩以前是無毒性的形式。故，器官具有合成的方法也具有降解此化合物的方法。另一方面，天門冬酰胺並未現示在生物合成反應中做爲氮來源，且在植物中除了對於併入蛋白質中是例外其代謝作用是純性的。

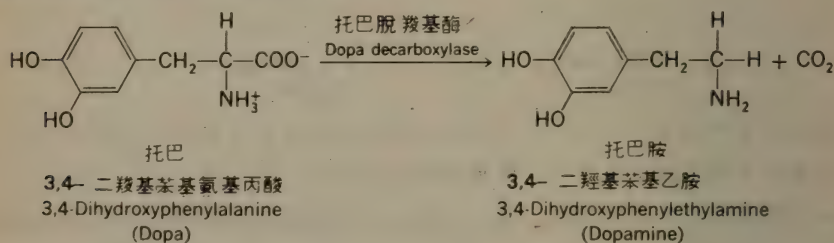
17-4.3 脫羧基作用 (Decarboxylation) 一般酶反應使許多氨基酸脫羧基之第三典型爲：



與脫氨基作用及氨基移轉作用適成對比，乃是涉及氨基酸之分解代謝作用 (catabolism of amino acids)，其脫羧基反應之組成景象 (anabolic aspect) 應加注意。若干形成之胺類為脫羧基作用之結果，均具有重要的生理效應。故在動物組織中發現的組織氨酸脫羧基酶 (histidine decarboxylase) 能產生組織胺 (histamine)，一種受質有胃液之分泌促進作用，其催化反應式為：



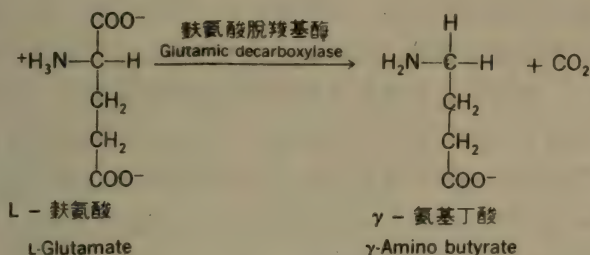
其他之酶如乾酪氨酸脫羧基酶亦將 3,4-二羧基苯基氨基丙酸 [3,4-dihydroxyphenylalanine 簡稱托巴 (dopa)] 脫羧基而成 3,4-二羥基苯基乙胺 [3,4-dihydroxyphenylethylamine 又簡稱多巴胺 (dopamine)]。此受質又為在腎上腺素形成中之中間體，為一種血壓收縮劑，乃個體受驚或嚇駭時，血液中放出之物質。腎上腺素之釋出，雖然受其他機程控制，但此脫羧基酶必須作用於此胺先質之形成中：



藉一特殊之脫羧基酶作用於 5-羥基色氨酸 (5-hydroxytryptophan) 形成之 5-羥基色胺 (5-hydroxytryptamine, or serotonin)，此酶在腦及腎臟中存在。5-羥基色胺為一血管收縮藥 (vasoconstrictor)，一種神經體液劑 (neurohumoral agent)，在毒液，例如由黃蜂及蟾蜍而來的毒液，中存在。

其他胺類之實例能由氨基酸經脫羧基酶作用而成，包括 γ -氨基丁酸 (γ -

amino-butyrlic acid)。此受質在馬鈴薯塊莖中大量存在，在其他植物中亦有發現，可在穀氨酸之 α -COOH 上行酶之脫羧基作用而產生：



γ -氨基丁酸 L (GABA) 在動物中央神經系統中是極為重要的化合物。在哺乳類小腦 (cerebellum) 中在神經元突觸 (synapse, 又稱聯會) 內為一抑制性發送機 (inhibitory transmitter)。由 GABA 行氨基移轉作用至 α -氧代戊二酸結果形成穀氨酸及琥珀酸半醛，故對於 GABA 再進入檸檬酸循環提供一途徑。此“GABA 分流”(GABA shunt) 可分出 10-20% 的 α -氧代戊二酸。

氨酸脫羧基酶需要磷酸吡哆醛為一輔因子。一 Schiff 鹽基再度為一中間體，且可能寫出詳細的脫羧基作用之機程（見第 8-8.3 項中機程之細節）。氨酸脫羧基酶之通常來源為細菌，雖然此酶類在自然界普遍存在。在細菌中之酶類是可誘導的，當細菌與氨酸在培育介質中成長時乃形成。

17-5 氨酸類之代謝的命運 (The Metabolic Fate of the Amino Acids)

早已注意，若碳水化合物或脂類對有機體是有效的，則蛋白質（及氨酸類）為產生能量往往並不降解。然則，氨酸却用於(1)肽及蛋白質之合成，(2)對於其他氨酸之合成做為氮原子之來源（藉氨基移轉作用），以及(3)在其他含氮及不含氮化合物之合成中（見第 17-4.3 項及 17-12 節）。任何氨酸在為此等三種活性所需量過多時則將藉脫氨作用而降解，結果碳架構得以代謝。產生之 NH_3 若過剩，將以一種含氮廢料消除之。但，含氮化合物之動力學狀態，需要很多 NH_3 在合成新的含氮化合物中為細胞所同化。

許多研究家已試驗碳架構在代謝過程中之命運，而且對於每種蛋白質的

氨酸可以寫出詳細的分解代謝程序。但如此程序之陳述並非本章之主旨。反之，表 17-1 列出二十種氨酸之分解代謝的最終產物。可以看做這是近乎所有在斷裂上產生的氨酸，不是三羧酸循環的一種中間體，丙酮酸便是乙醯基-CoA。只有五種氨酸為例外，所得為乙醯基醋酸。因，雖然此化合物也形成乙醯基-CoA，氨酸之所有碳架構最終仍經由三羧酸循環而被氧化。這些能發生循環中間體的氨酸（或發生丙酮酸的）能轉而轉變為葡萄糖（見第 10-7.2 項）。為此理由，此等氨酸已稱之為生葡萄糖的氨酸（glucogenic amino acids）。另一方面在降解程序中產生乙醯基-CoA 或乙醯基醋酸的氨酸，在相同條件下在動物中得到酮體（ketone bodies）故稱之為生酮的氨酸

表 17-1 氨酸代謝作用之最終產物

氨酸 ^a	最終產物
氨基丙酸 絲氨酸 半胱氨酸 胱氨酸 甘氨酸以及蘇氨酸 (2)	丙酮酸
白氨酸 (2)	乙醯基-CoA
苯基氨基丙酸 (4), 酪氨酸 (4), 白氨酸 (4), 賴氨酸 (4), 以及色氨酸 (4)	乙醯醋酸(或其 CoA-酯)
魚精氨酸 (5), 脯氨酸, 組纖氨酸 (5), 麩醯胺以及麩酸	α - 氧代戊二酸
甲硫基丁氨酸 (4), 異白氨酸 (4) 以及纈氨酸	琥珀醯基-CoA
苯基氨基丙酸 (4) 及酪氨酸 (4)	反丁烯二酸
天門冬醯胺及天門冬酸	草醋酸

括弧中之數字乃實際所列轉變的最終產物的氨酸中之碳原子數。

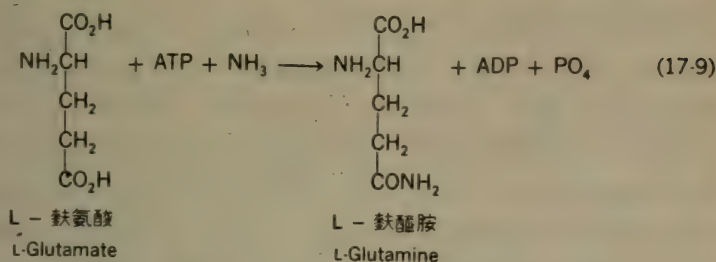
酸（ketogenic amino acids）。若干諸如苯基丙氨酸及乾酪氨酸，均同時為生葡萄糖的及生酮的，其部分碳原子轉變為反丁烯二酸，而其餘的轉變為乙醯基醋酸。

17-6 NH_3 之同化作用（Assimilation of NH_3 ）

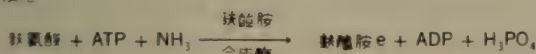
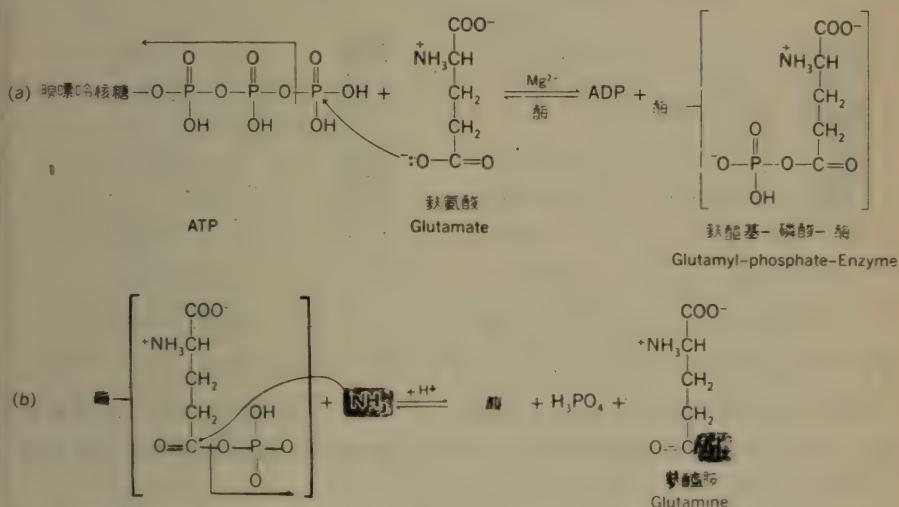
17-6.1.1 麩醯胺有關 ATP 之合成酶（Glutamine synthetase）

在 NH_3 之同化作用中主要反應為被“麩醯胺有關 ATP 之合成酶”（glutami-

ne synthetase) 所催化，此酶是在自然界中無所不在的。



相信第一步驟乃成一個“ γ -麸鹽基磷酸-酶錯合體 (γ -glutamyl-phosphate-enzyme complex)。在第二步驟中，氨為一優良的親核質 (nucleophile)，作用於此錯合體，且移置其磷酸原子團而形成麸鹽胺及無機磷酸。注意僅有 γ -鹽胺形成。異麸鹽胺，為一具有 α -羧基原子團被鹽胺化之化合物，則從未生成。此酶亦具高度專用性，因天門冬酸不能代替麸酸為一受質 (見圖解 17-2)。

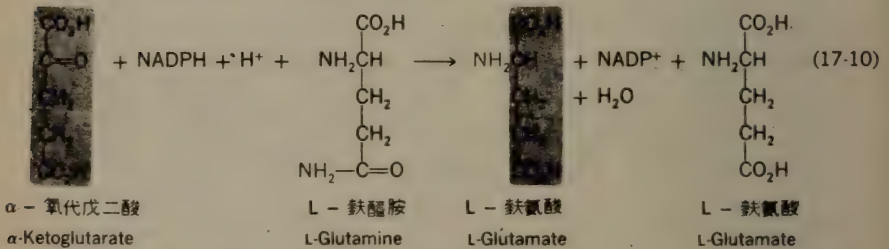


圖解 17-2

在氮代謝作用中麩醯胺之意義乃如下之事實結果，即胺醯氮原子用做如下之含氮化合物：麩氨酸，天門冬醯胺，色氨酸，組織氨酸，6-磷酸葡萄糖胺， NAD^+ ，*p*-氨基苯酸，以及氨基甲醯磷酸（carbamyl-phosphate）/（以及由此而來之脲素，魚精氨酸，CTP，AMP，及GMP）之先質。

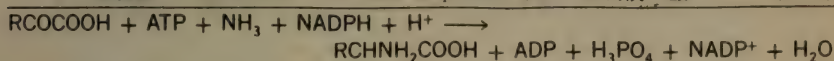
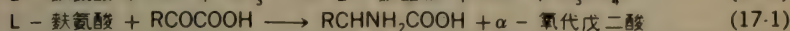
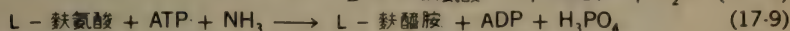
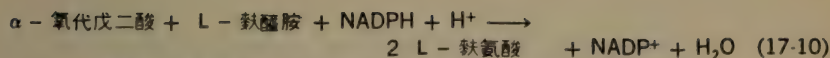
因麩醯胺為一多功能的先質，故此酶催化其合成作用為一反效酶可被多種不同化合物所控制（第20-5.1項）之事實就不以為奇了。麩醯胺代謝作用之產物不到八種——色氨酸，組織氨酸，甘氨酸，氨基丙酸，6-磷酸葡萄糖胺，氨基甲醯磷酸，AMP，CTP——已示明做為在大腸菌中酶之獨立的負性反饋抑制劑（independent negative feedback inhibitors）。

17-6.1.2 麩氨酸合成酶（glutamate synthase） 多年來，麩氨酸脫氫酶（glutamic dehydrogenase）（反應17-3）已引證對於 NH_3 之同化作用為一主要途徑。參與氨基移轉作用結果形成任何氨酸（圖解17-1之逆轉）其酮酸類似一代謝物質。但在線粒體中麩氨酸脫氫酶並未在前述（第17-4.2項）合成之方向中呈現其功能。麩氨酸合成酶之最近發現呈示此問題的答案。此酶在各細菌品種中廣泛存在，催化如下反應：



與麩氨酸脫氫酶之催化反應（反應17-3）類似。這是可注意的，其中麩醯胺對於 NH_3 應取代之。對於一基本的生物合成反應之酶，此催化劑對NADPH高度有效，且對NADH則無活性。近來，麩氨酸合成酶已證明在植物中存在。此酶已發現在葉綠體中，且使用被還原的鐵還原氧化體為還原劑而不用NADPH。

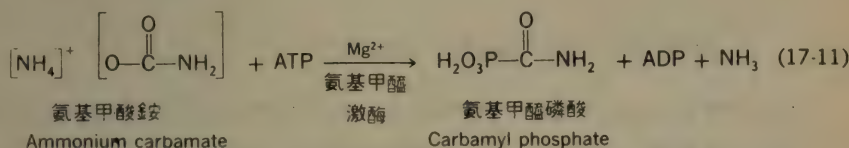
被麩氨酸合成酶催化的反應能與麩醯胺合成酶（反應17-9）及氨基移轉酶（反應17-1）偶聯而得氨酸（ $\text{RCHNH}_2\text{COOH}$ ）是由酮酸類（ $\text{RCO}-\text{COOH}$ ）用ATP水解為唯一方向且推動之。



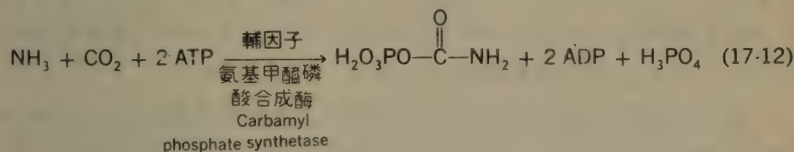
此偶聯反應組無疑說明了此等氨酸的合成，其類似的 α -酮酸能被器官所合成。此系統也在生物學氮固定（第16-4節）中之 NH_3 同化反應內是非常重要的。

17-6.2 氨基甲醯磷酸之合成 (Carbamyl phosphate synthesis)

NH_3 之同化反應之第二主要任務涉及化合物氨基甲醯磷酸。當Lipmann及Jones兩氏陳述由氨基甲酸 (carbamic acid) 之銨鹽在糞鏈球菌 (*strep-tococcus faecalis*) 中之一種酶的環境下催化此氨基甲醯磷酸時，便首次與氮之代謝反應發生關係了。氨基甲酸之化學是複雜的；反應為吸熱的 ($\Delta G' = +2000 \text{ cal/mole}$)。

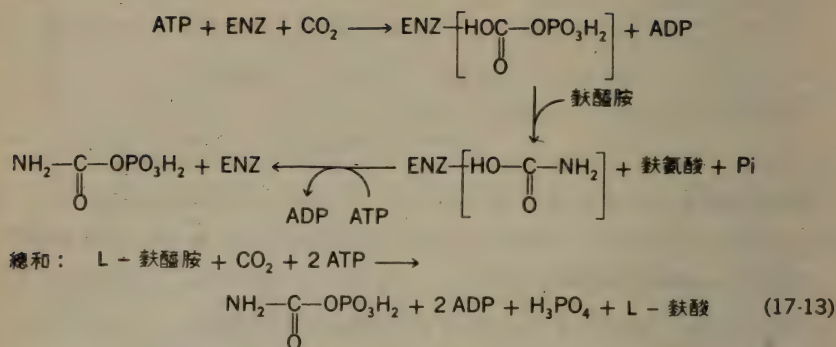


在造成尿素的動物肝臟之線粒體中，酶類，氨基甲醯磷酸合成酶 (carbamyl phosphate synthetase) 由 NH_3 及 CO_2 催化之成為氨基甲醯磷酸；在此反應中，需要2莫耳之ATP及1個輔因子，N-乙酰基麩氨酸。反應之詳情尚未明瞭，但其計量化學已確立：



此反應不易逆轉，因有一“能量豐富鍵”的減少，若反應由左向右進行。

在大腸菌中發現有一麩醯胺有關之氨基甲醯磷酸合成酶，與所述的類似只是氨酸由麩醯胺衍生的這一點不同。也需要2 ATP，且有證據酶-束合之氨基甲醯磷酸為一中間物，接受由麩醯胺而來的 NH_2^- 基而形成一產物，然後再與第二個ATP化合。



由反應 17-12，或反應 17-13 形成的氨基甲醯磷酸為尿素的先質，亦為嘧啶類（pyrimidines）的先質，本章以後要討論產生此類嘧啶的反應程序。

17-1 尿素循環（The Urea Cycle）

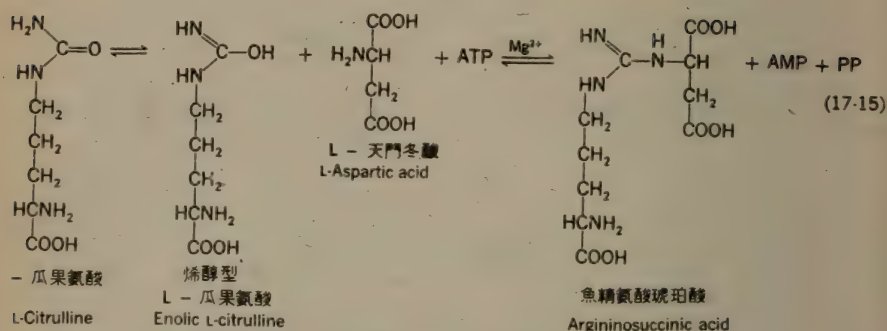
合成有機氮化合物時需要之氮過量後，乃由動物以各種方式排出（見第 17-8 節）。哺乳類將 NH_3 中之 N 原子轉變為尿素，在尿中排出。完成尿素合成之循環反應也是魚精氨酸之生物合成途徑，只有一個反應為例外。

哺乳類以尿素為主要的最後含氮排泄物。Hans Krebs 爵士，嗣後德國研究者以及 K. Henseleit 氏均為首先研究動物組織中尿素形成之人士。他們觀察鼠肝碎片能將 CO_2 及 NH_3 （即 1 莫耳 CO_2 及 2 莫耳 NH_3 ）轉變為尿素，且供給若干能源。對若干可氧化的物質如乳酸或葡萄糖之需要是可瞭解的，因由 NH_3 及 CO_2 之形成尿素需要能量也。

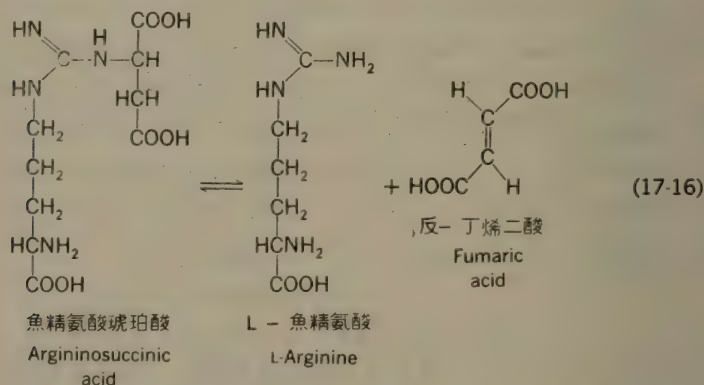
氨酸如魚精氨酸在此程序中十分複雜，因魚精氨酸酶（arginase）之催化反應 17-17（在以後）知在水解魚精氨酸時生成尿素及鳥氨酸。但正確的關係已由 Krebs 氏示明魚精氨酸及鳥氨酸或瓜果氨酸之催化量可刺激而由氮形成適量之尿素。在 1932 年，Krebs 氏設想一循環反應乃說明由 NH_3 及 H_2O 產生尿素，且解釋魚精氨酸，鳥氨酸及瓜果氨酸之催化作用。此種循環稱為尿素或鳥氨酸循環，見圖解 17-3。雖然此循環本質上並無改變，但可能寫出若干更詳細的反應。

在起始步驟中氨基甲醯磷酸亦可與鳥氨酸化合而在鳥氨酸氨基甲醯轉化。

的氮化物之生化合成中。將在本章中以後再述。

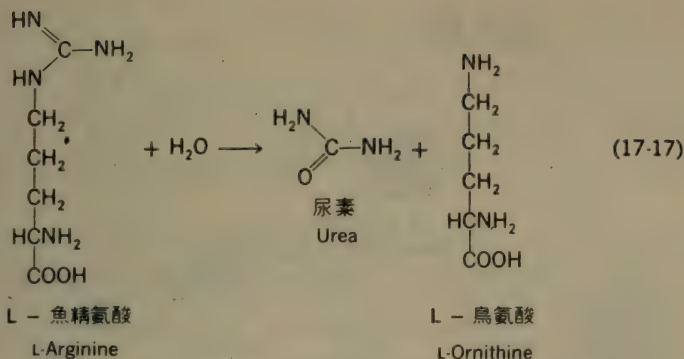


魚精氨酸琥珀酸之廣續分裂程序乃被魚精氨酸琥珀酸分裂酶 (argininosuccinic cleavage enzyme) 所催化,已由雄牛肝臟精製之;亦在植物組織及微生物中發現其存在。反應 17-16 與天門冬氨酸加成消去酶反應 (第 17-4.2.3 目) 形成上是類似的。



其中 NH_3 或一取代的氮被脫去而成反-丁烯二酸。對此反應之 K_{eq} 在 pH 7.5 為 11.4×10^{-3} 。因反應由左寫至右,結果由單一之反應物形成兩種生成物,此 K_{eq} 值決定魚精氨酸琥珀酸將在濃縮溶液中占優勢,而魚精氨酸及反-丁烯二酸將在稀溶液中占優勢。

魚精氨酸酶可催化不可逆的 L-魚精氨酸水解為鳥氨酸及尿素,此酶對生物合成的魚精氨酸進入一循環程序以單方向的轉為尿素。



故反應 17-14 直至 17-16 完成由鳥氨酸 NH_3 及 CO_2 之生成魚精氨酸，此乃一普遍存在的氨酸。催化此等反應之酶或者在動植物及微生物之許多組織中存在。雖然合成率在大多數哺乳類組織中太低了，除肝臟為例外，以致說魚精氨酸是可缺少的氨酸。另一方面，在肝臟中更快速的合成也更快速的被魚精氨酸酶水解為可用於合成蛋白質的物料，魚精氨酸可能形成尿素在動物肝中已發現，且知排洩之尿中同時有魚精氨酸合成用的酶類。肝臟為在哺乳動物中主要的形成尿素的場所，雖然若干尿素之合成能在腦及腎臟中發生。

所討論之諸反應程序在圖 17-3 中示明。該循環說明由 NH_3 ， CO_2 及天門冬酸之氨基形成尿素。對可氧化的受質所需之能量據 Krebs 氏報告，說明在形成氨基甲醯磷酸及魚精氨酸琥珀酸中須有 ATP 之參考。由反-丁烯二酸轉變回返為天門冬酸，其他莫耳之氨基氮可在循環中帶至各反應處。

17-8 氮素排泄之比較生物化學 (Comparative Biochemistry of Nitrogen Excretion)

觀察動物，見有三種含氮排泄物最為普遍： NH_3 ，尿素及尿酸。生物之選擇其中之何種形式端視此等化合物之性質而定： NH_3 頗具毒性，但亦極易溶解在水中；尿素毒性較小在水中溶解度適中；尿酸則十分不溶於水，故幾無毒性。有頗多證據可假定被生物排泄之氮的形式取決於該生成物對 H_2O 之易於獲得與否。

海棲生物在水中生活，可排泄廢棄之產物於大量之水中。雖然 NH_3 甚具毒性，亦可排泄，且迅即為其周圍之 H_2O 所稀釋。因此，許多海棲生物以排

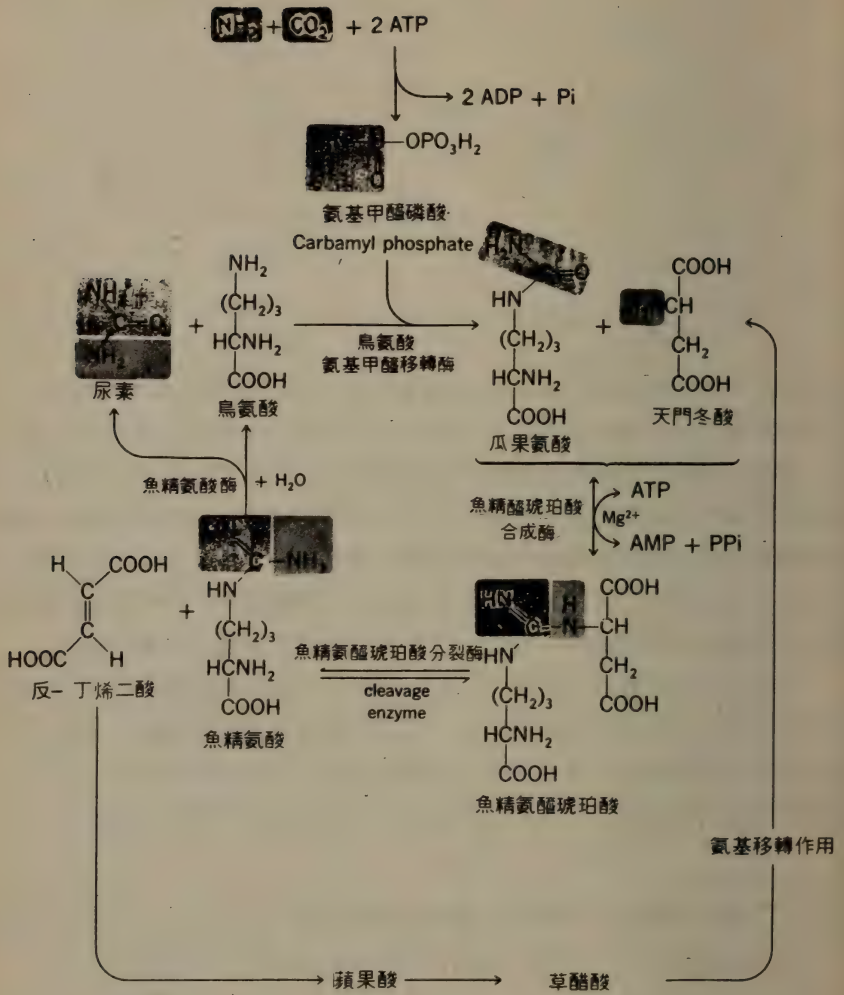


圖17-1 尿素循環

洩 NH_3 為主要的含氮最後產物。唯魚類則為重要的例外也。

陸棲動物水之供給有限，故 NH_3 之毒性不可積聚。結果大多數陸上動物發展一程序將 NH_3 轉變為尿素及尿酸。

據英國生物學家 Needham 氏意見，尿素與尿酸間之選擇乃取決於胚胎之

發育。哺乳類胚胎發育與母體之循環相密接。故十分溶解的尿素可由胚胎移出而排泄之。另一方面鳥類及爬蟲類之胚胎發育在外圍為一硬殼的卵中。卵中之足量之水係為孵化時期之用。產生 NH_3 或即使是尿素在如此密閉系統中究竟因其毒性而有災害。因此胚胎却生產尿酸而在殼內面之小囊中沉澱出一種固體，此等特徵對胚胎殊為必需。然後得以成長。

有頗饒趣味的實例支持此原則：蝌蚪為水棲動物，主要排泄物為 NH_3 ，但變態為陸棲型之蛙後，長時間離水生活。在此期此動物排泄尿素而不是 NH_3 矣。且在完全變態成功時，則主以尿素為排泄物。

肺魚 (lungfish) 為另一有趣之實例。當在水中則排泄 NH_3 為主，但在河川乾涸時，肺魚潛在泥漿中，開始夏眠，乃積聚尿素為其最終氮生成物。雨水降臨後，肺魚排出大量尿素，然後再開始排泄 NH_3 矣。

龜鼈類 (如烏龜及玳瑁) 有完全為水棲動物者，半陸棲者，及第三種完全為陸棲的。其中水棲者排泄尿素與氨之混合物，半陸棲者排泄尿，而陸棲者幾乎全部之氮為尿酸矣。

氮之排泄問題為已發展的比較生物化學中之最佳實例了。

17-9 尿酸之形成 (Formation of Uric Acid)

參考前節知尿酸為一形式，在鳥類及陸地爬蟲類中蛋白質代謝則以 NH_3 產物排洩之。在人類及其他靈長類，Dalmatia 一種黑白花的守望狗，鳥類以及若干爬蟲嘌呤類之代謝最終產物主要的也是尿酸。故鳥類及爬蟲之具有尿酸為其主要的氮廢料排洩產物者首先必須轉變 NH_3 為嘌呤是經過一可相當簡短的反應完成的。

三種嘌呤鹽基轉變為尿酸的圖解見圖 17-2。黃質 (Xanthine 又稱黃嘌呤或 2,6-二羥基嘌呤) 氧化酶可催化形成尿酸，此酶係在腎臟中之過氧體與其他氧化酶同時發現的 (見第 17-4.2.2 目)：

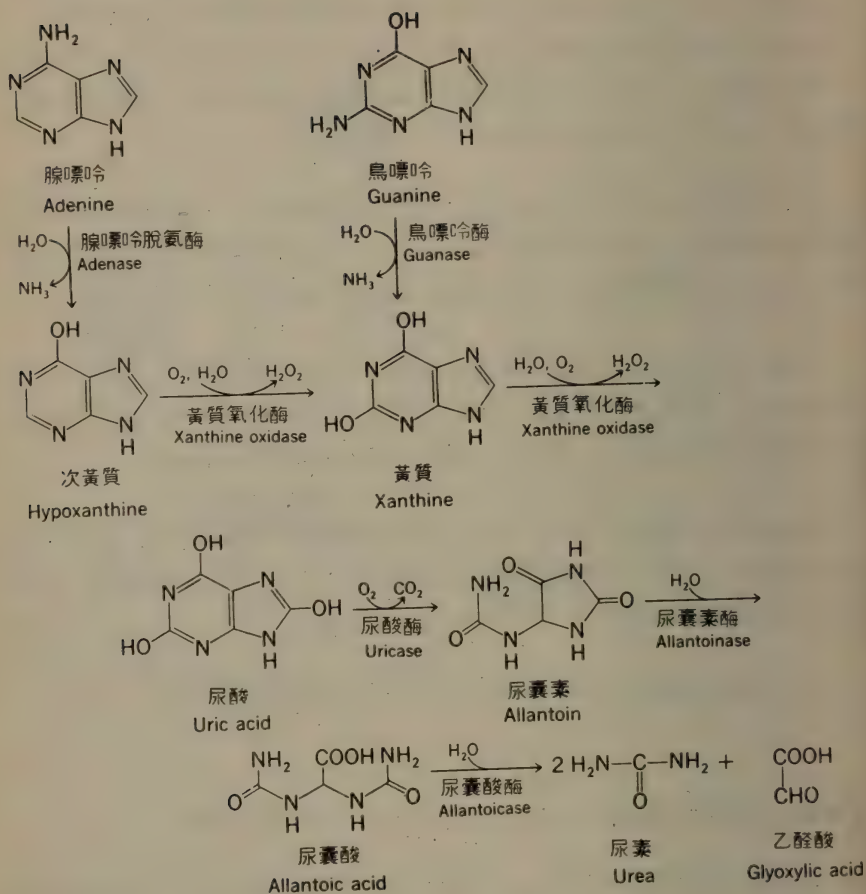


圖17-2 腺嘌呤及鳥嘌呤之代謝的降解作用

哺乳動物不像及其他靈長類及大多數爬蟲類產生尿囊素（allantoin）以為其嘌呤代謝之最終產物。如此器官含有之酶為尿酸酶（uricase）能轉變尿酸為尿囊素。硬骨魚（teleost fish）轉變尿囊素為尿囊酸，而大多數魚類及兩棲類降解尿囊酸進一步為尿素及乙醛酸。嘧啶鹽基斷裂為 NH_3 ， CO_2 以及丙酸及琥珀酸其反應不在此處論列。

17-10 氨基酸代謝之組成代謝的景象 (Anabolic Aspects of Amino Acids Metabolism)

前數節中已知何以 NH_3 能被同化而為兩種主要代謝物麩醯胺及氨基甲酸磷酸，且氨基於是經此再至其他含氮化合物中。麩氨酸在氨基移轉反應中之主要性已討論，而現要再討論，僅在一般項目下，即氨酸之碳架構的起源。再度要詳為陳述每種蛋白質有關氨酸之生物合成程序自非本書之宗旨，但某些顯而易見的此等碳架構來源却能說明之。

酮酸類，丙酮酸，草醋酸，以及 α -氧代戊二酸前已討論；藉氨基移轉作用，此等化合物均分別轉變為氨基丙酸，天門冬酸，以及麩氨酸。因其酮酸能由碳水化合物先質所產生（見第12-7節中對於 α -氧代戊二酸及草醋酸形成之特殊條件），故氨基丙酸，天門冬酸，以及麩氨酸之為可缺少的氨酸就不足驚奇了。因天門冬酸及麩氨酸能轉變為其他醯胺類（第17-6.1.1目）故醯胺類也是可缺少的。此外麩氨酸能轉變為脯氨酸及鳥氨酸（故間接的亦轉變為羥基脯氨酸，瓜氨酸，以及魚精氨酸）（見第17-7節），且此等氨酸均可歸入可缺少的一類。麩氨酸之碳架構能造成此等氨酸的本領導出一觀念即：氨酸類之“麩氨酸族屬”（glutamate family）。見表17-2。

表17-2 藉生物合成之氨酸族屬關係

麩氨酸	天門冬酸	丙酮酸	磷酸烯醇 丙酮酸	3-磷酸 甘油酸
麩氨酸	天門冬酸	氨基丙酸	苯基氨基丙酸	絲氨酸
麩醯胺	天門冬醯胺	白氨酸	乾酪氨酸	甘氨酸
脯氨酸	脯氨酸	組氨酸	色氨酸	半胱氨酸
魚精氨酸	甲硫基丁氨酸 蘇氨酸			

另有四種其他族屬由生物合成之研究已洞曉了，主要是用微生物能由葡萄糖或其他簡單先質諸如醋酸造成所有的蛋白質氨酸。設想此等族屬之關係在高等植物中存在，這些植物能造成所有此等化合物終究均來自 CO_2 的。注意丙酮酸，磷酸烯醇-丙酮酸以及3-磷酸甘油酸，在糖酵解中之中間物均為若干氨酸類之祖先。在此等場合中，父代化合物缺少氨基氮原子，往往以氨基

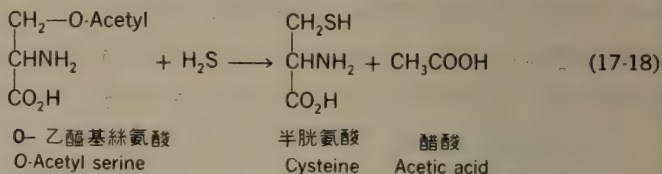
移轉作用補充之。

在動物中沒有這等酶類便不能產生不可缺少的氨酸早已洞悉。讀者要自己勇於探究中間代謝作用的古典領域。

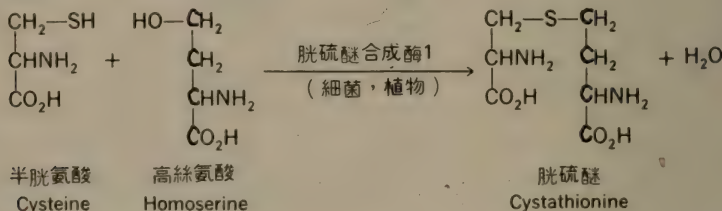
17-11 含硫氨酸類之代謝 (Metabolism of the Sulfur-Containing Amino Acids)

17-11.1 生物合成 (Biosynthesis) 含硫氨酸之代謝將簡短討論，因多少有些不尋常的性質。

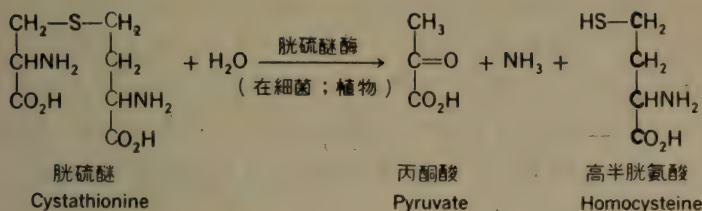
半胱氨酸，高半胱氨酸，以及甲硫基丁氨酸間之關係對於將硫併入有機化合物中主要反應便是藉半胱氨酸合成酶形成半胱氨酸（見第 16-8.3 項）便知其最佳評價了。此反應在細菌及高等植物中發生，但在動物中則否。



細菌及高等植物能用半胱氨酸為一硫源，來造成甲硫基丁氨酸；此程序稱為“**硫基移轉作用**” (transsulfurylation) 與天門冬酸之氮使之進入魚精氨酸中之胍基中的方式很類似。在酶類“**胱硫醚合成酶, I**” (cystathionine synthase I) 環境下產生一種含硫加成產物稱為**胱硫醚**, 即丙氨酸丁氨酸硫醚 (cystathionine)

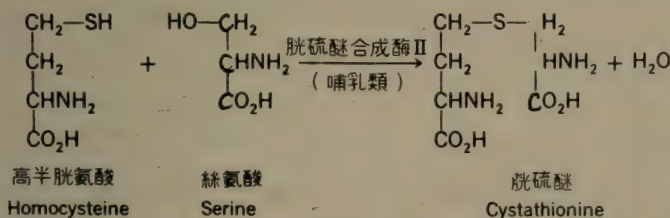


注意三碳單位是由半胱氨酸供應及四碳單位由高絲氨酸（由天門冬酸衍變的）供應。在胱硫醚酶環境下，胱硫醚被水解斷裂在相反側之硫原子產生高半胱氨酸，丙酮酸，以及 NH_3 ：

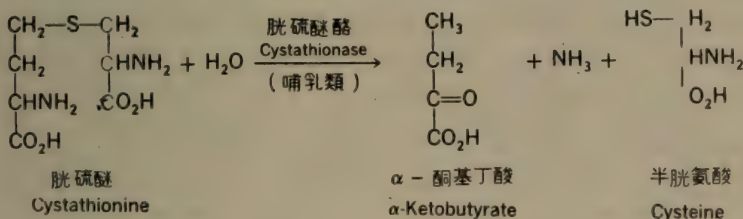


高半胱氨酸被廣續甲基化（被四氫葉酸或維生素B₁₂），而成為甲硫基丁氨酸（見第8-9.3.3目）。

前述對於細菌及植物之反應與相互關係在動物中幾乎均可逆轉進行的，而不能由H₂S及SO₄²⁻造成半胱氨酸（或高半胱氨酸）而動物合成其半胱氨酸是由甲硫基丁氨酸，這是不可缺少的氨酸。誠然，甲硫基丁氨酸之“重要處”乃在此“無能力”。因甲硫基丁氨酸之硫雖能用於製造半胱氨酸，但後者並非是一種基本重要的氨酸。胱硫醚在此程序中仍為一中間體。在哺乳類胱硫醚合成酶II環境下高半胱氨酸（甲硫基丁氨酸之脫甲基衍生物）與絲氨酸生成胱硫醚：

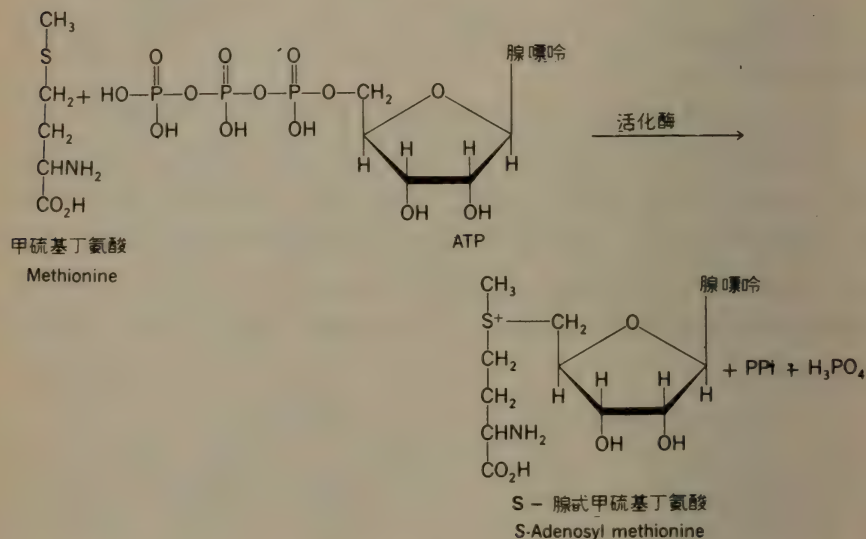


然後此化合物水解得半胱氨酸，α-酮基丁酸，以及NH₃：

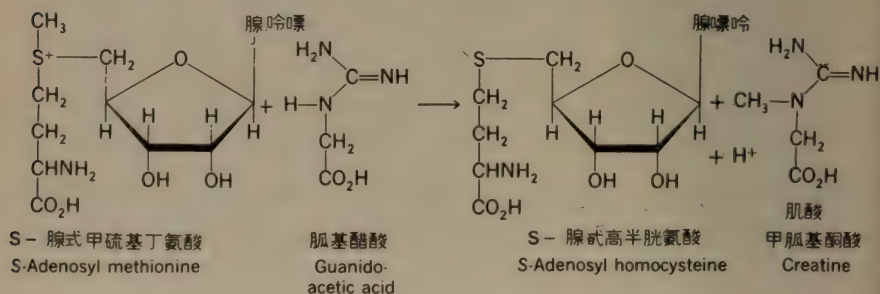


注意此時半胱氨酸之三個碳原子起始於絲氨酸中；而硫原子則來自高半胱氨酸，且間接來自甲硫基丁氨酸。上述四種酶類均涉及胱硫醚之形成及水解，且均為含有磷酸吡哆醛為一輔因子之酶類。

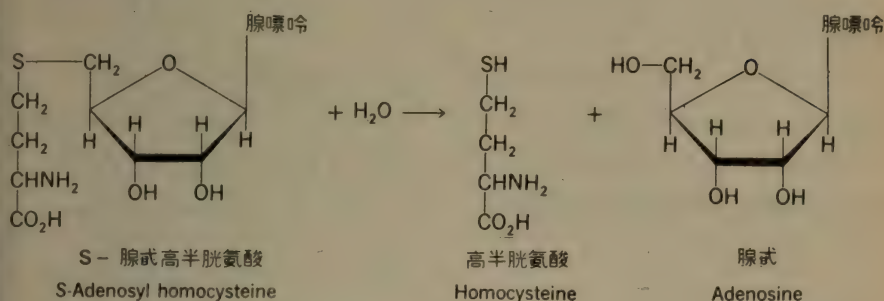
17-11.2 活性的甲硫基丁氨酸 (Active methionine) 兩種另外的反應超出前述之硫氨酸間之關係，且在不同方式中說明ATP 能用來活化一受質。在許多實例中甲硫基丁氨酸之甲基傳遞至接受體分子處以形成甲基化衍生物。甲基給予者稱為S-腺甙甲硫基丁氨酸 (S-adenosyl methionine)；其形成乃由一活化的酶，在ATP 及甲硫基丁氨酸之環境下進行的。



在此反應中，ATP 之三磷酸根原子團已移去，而成磷酸根及焦磷酸根，且腺甙之殘基與硫原子聯接形成一鎧衍生物 (sulfonium derivative)。此化合物為一高能量化合物，易於傳遞其甲基至接受體分子〔即胍基醋酸 (guanidoacetic acid)〕中在此程序中乃生成 S-腺甙高半胱氨酸：



S-腺甙高半胱氨酸能被水解成腺甙及高半胱氨酸，此物轉而用於半胱氨酸合成中：

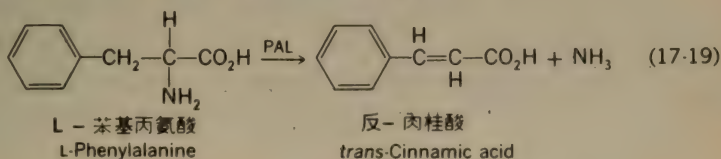


17-12 氨酸類爲其他化合物之先質 (Amino Acids as Precursors of other Compounds)

早就注意到氨酸之功能爲重要非蛋白質化合物的先質。前已參見藉脫羧基作用合成生理的活性胺類 (第17-4.3項)。

氮 (基) 酸在植物中爲大量自然界產物之主要先質。故植物鹼 (plant alkaloids) 爲由賴氨酸，色氨酸，苯基丙氨酸，酪氨酸衍生的。含氮的生氰的甙 (nitrogen-containing cyanogenic glycosides) (又稱配糖物)

(glycoside) 及芥子油糖甙 (mustard oil glucosides, or glucosinolates) 均由氨酸衍生的。木質，在自然界中第二種最普遍大量存在的化合物 (第一種是纖維素)，乃由反-肉桂酸 (trans-cinnamic acid) 所產生的。這是一種黃酮類化合物 (flavonoids)，酚酸 (phenolic acid) 以及香豆素 (coumarins) 之變種。反-肉桂酸是由苯基丙氨酸氨加成消去酶 (phenylalanine ammonia lyase PAL) 作用於L-苯基丙氨酸上而產生的。酶催化其第一步在轉變苯基丙氨酸爲一廣泛變種的自然產物，在許多植物藉植物色素 (phytochrome) 或其他有關光之程序來調節之。



17-13 樸啉生物合成 (Porphyrin Biosynthesis)

在樸啉分子之生物合成中甘氨酸是非蛋白質化合物先質這事實乃氨酸重要性的另一實例。

17-13.1 化學 (Chemistry) 生物化學的重要化合物，葉綠素，血紅朊 (hemoglobin) 及細胞色素 (cytochromes)，均具有一共同之環狀四吡咯結構 (cyclic tetropyrrole structure) 特稱為樸啉 (porphyrin)。母體結構樸啉含有四個吡咯環以甲川 (又稱次甲) 橋 (methine bridge)。

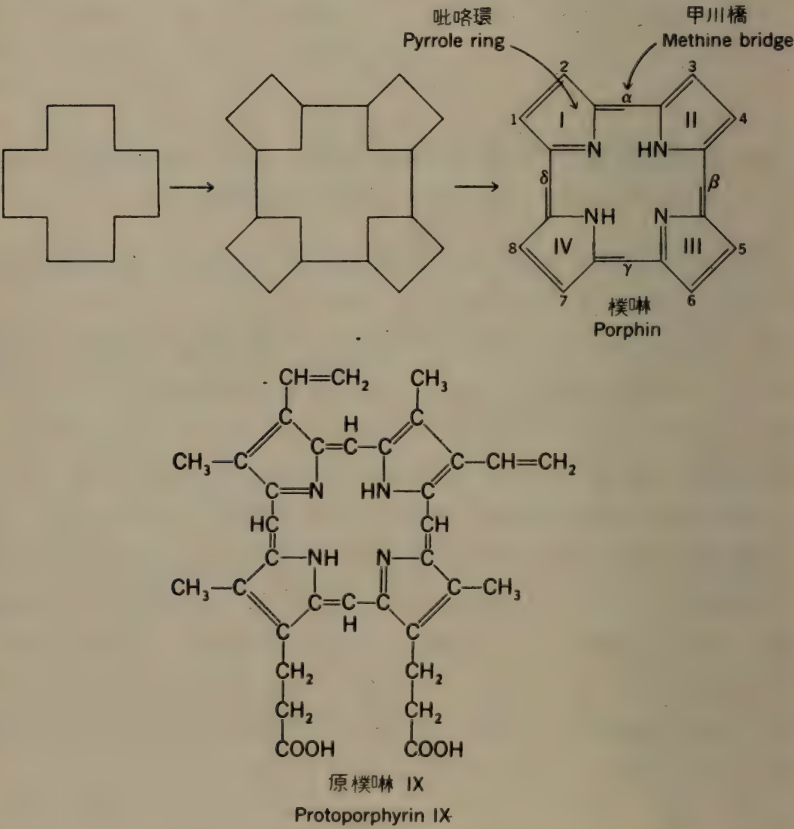


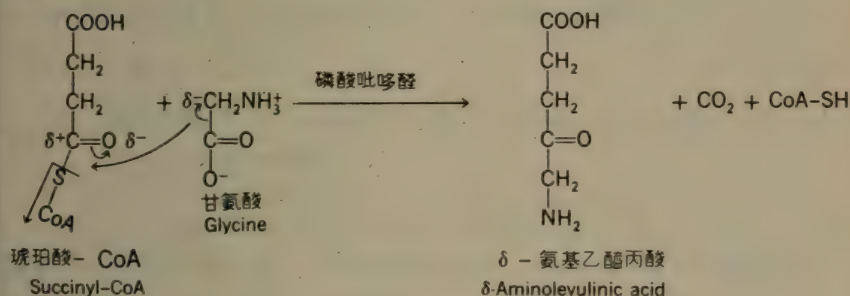
圖17-3 上首表示一簡單描繪之樸啉環，首先畫一對稱的空十字，加上各樸啉環，完全之結構便是樸啉環，下首所示為原樸啉 IX

-CH=, 相聯結, 在討論其化學之前, 應先略述一方法俾寫出一模倣環。上圖 17.3 即表示其寫出程序。

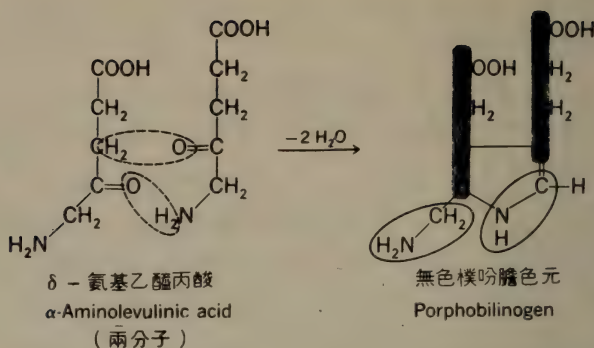
圖中環 I, II, III 及 IV, 均以甲川橋相啣接, 稱為 α , β , γ 及 δ 。注意雙鍵系統均具高度的共軛性。實際上, 雙鍵均不能肯定表示出來, 因該結構乃與許多可能的結構為一共振系 (resonating system) 也。原模倣 IX (protoporphyrin IX) 為 15 種可能異構物中之一種, 在自然界中極為普遍。模倣環為一扁平結構以一特殊金屬以四個吡咯殘基上的氮原子之電子對做密切的螯形鍵結。在生物功能的四吡咯中發現僅有的金屬為鎂 (在葉綠素中), 鐵 [在正鐵血紅素, 細胞色素過氧化酶及過氧化氫酶 (catalase) 中] 以及鈷 [在鈷素 (cobalamines) 改變之吡咯中]。

17-13.2 生物合成 (Biosynthesis) David Shemin 及 S. Granick 兩氏對重要的環狀吡咯結構之生物合成貢獻頗多。同位素的數據顯示吡咯環之所有碳及氮的原子均由甘氨酸及琥珀酸衍生而得。該生物合成之程序可分如下之四步驟。

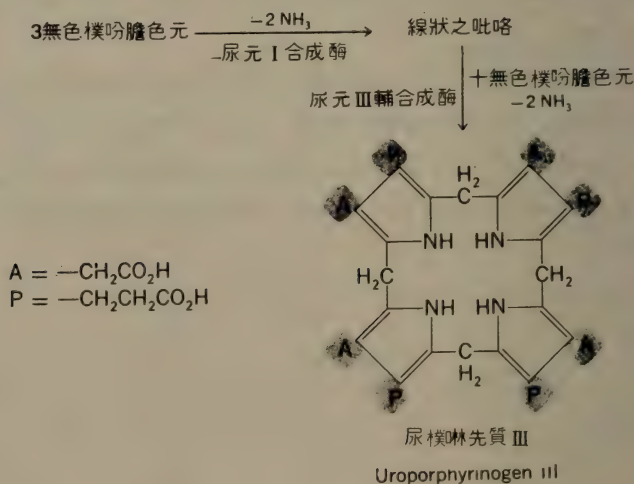
17-13.2.1 步驟 1: 甘氨酸及琥珀酸-CoA (琥珀酸之賦活型式), 在一到處都有的酶, ALA 合成酶之環境下成為 δ -氨基乙醯丙酸 (δ -amino levulinic acid, ALA)。此酶在正鐵血紅素生物合成中為控制反應率之酶, 且被正鐵血紅素及氯化血紅素 (hemin) 作用受最終產物之抑制。此酶需要磷酸吡哆醛。



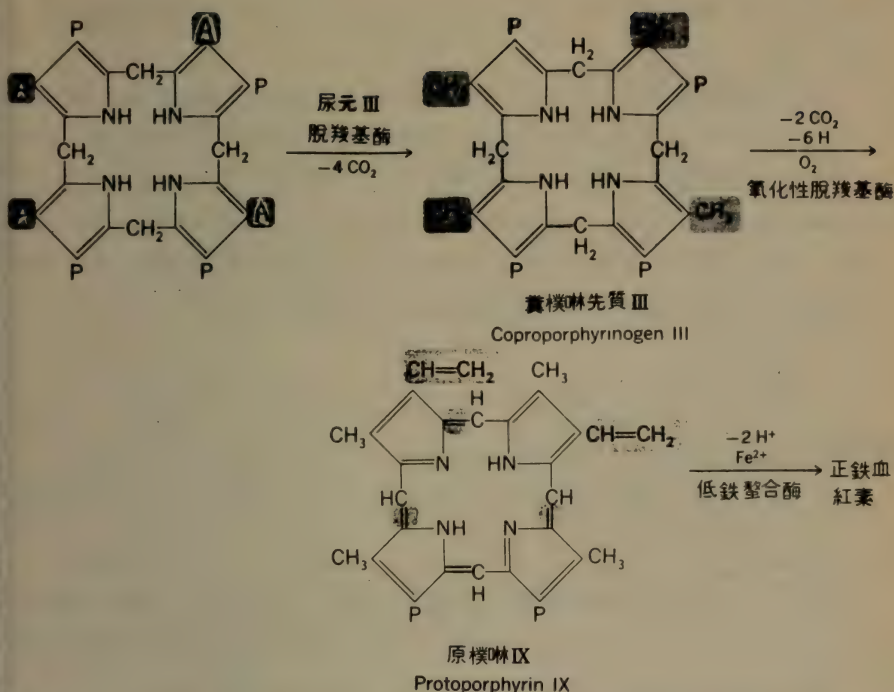
17-13.2.2 步驟 2: 此第二步驟涉及以 ALA 脫水酶 (ALA dehydrase) 綜合二分子的 δ -氨基乙醯丙酸而產生吡咯衍生物無色模倣膽色元又稱模倣先質 (prophobilinogen)。注意在環上分配的甘氨酸 (白圈) 及琥珀酸 (陰影圈) 情形。



17-13.2.3 步驟3：雖然此反應尙不十分瞭解但甚重要，因在此程序中有正確的異構物，尿樸啉先質 III (uroporphyrinogen III) 合成。乃尿樸啉先質之四種可能的異構物中之一種。



17-13.2.4 步驟4：此系列反應中在環 I，II，III 及 IV 中之乙醯基側鏈 (acetyl sidechains) 均以廣泛分佈的脫羧基酶脫羧基而成甲基原子團，則成糞樸啉先質 III (coproporphyrinogen III)。在環 I 及 II 上之丙基殘基在 α ， β ， γ 及 δ 位置中的甲烷橋 (methane bridge) 均被一特殊系統氧化為原樸啉 IX (protoporphyrin IX)。最後，在線粒體中之特殊低鐵螯合酶 (ferrochelatase) 將低鐵離子嵌入四卟咯環中而形成原正鐵血紅朊形狀。



其他變形由特殊酶類催化之，相信可將原卟啉 IX 成為綠葉植物的葉綠素。

在細胞色素 *c* 中之正鐵血紅朊部分為其特殊之蛋白質所束縛，藉硫醚鍵與半胱氨酸殘基鍵聯又藉甲硫基丁氨酸及組氨酸鍵聯如第 4-10.1 項所述。

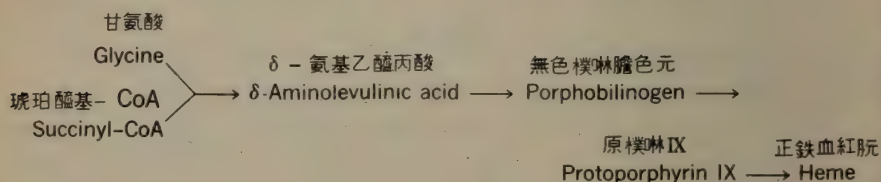
17-14 四吡咯合成之調節作用 (Regulation of Tetrapyrrole Synthesis)

卟啉合成之調節作用涉及許多因素。在卟啉生物合成中有關之許多酶類要加以分成區段來看才是完整的圖型。故 ALA 合成酶及糞卟啉先質氧化酶均在線粒體中，而其他酶類則局限在細胞色素中。

早先存在於生物合成序列中顯示乃對於正鐵血紅朊合成之“控制點”(control point)，稱為 ALA 合成酶及 ALA 脫水酶 (ALA synthase and dehydrase)，之兩種酶類此脫水酶可被 40 μ M 正鐵血紅朊抑制 50%，而該合成酶依一反饋機程被 1 μ M 正鐵血紅朊抑制 50%。因 ALA 合成酶之存在為

低濃度，則在核糖合成中乃為反應率有限之酶。但 ALA 脫水酶呈現為一第二控制點。

除上述控制情形外，ALA 合成酶是在許多細菌及胚的組織 (embryonic tissues) 之生長培養基上形成的，因正鐵血紅朊濃度低而被抑制。其他控制之實例如酵母中血蛋白 (hemoprotein) 合成上氧之堪注意的效果。當酵母細胞嫌氧的生長時，此等細胞無線粒體且不含有效量的細胞色素。當細胞置於氧中，則迅即呈現線粒體，且形成完全的細胞色素錯合體。若此適應性由嫌氧至需氧情況過程中，細胞色素 *c* 含量則增至 50 倍。



圖解 17- 4

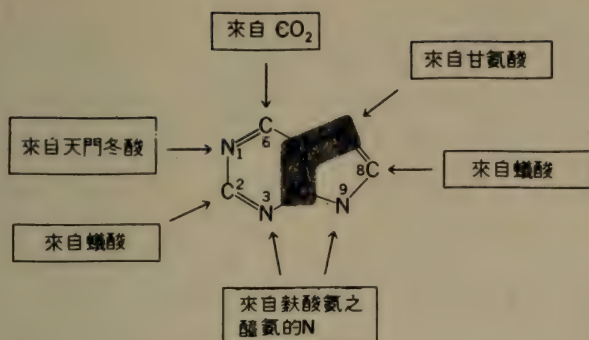
總之，正鐵血紅朊同時在 ALA 合成酶行使一反饋控制及一抑制控制。此外，ALA 脫水酶為正鐵血紅朊所抑制。最後，氧及一化學品之宿主能顯著影響正鐵血紅朊及血蛋白之濃度在准核的細胞及真核的細胞均如此。

17-15 嘌呤生物合成 (Purine Biosynthesis)

討論含氮聚合元之代謝反應要包括嘌呤類及嘧啶類。適與基本的或不可缺少的氨基酸對比。嘌呤類及嘧啶類可由簡單的先質形成，不論在動植物中均如此。

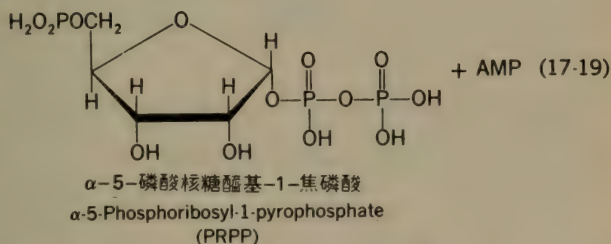
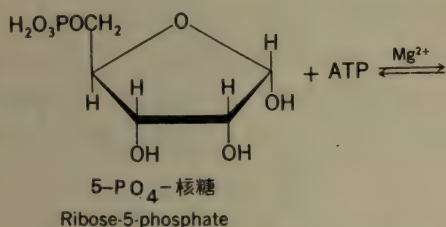
用放射性同位素做實驗已顯露嘌呤核之九個原子由五種不同先質所衍生，每種先質所屬原子標示在圖解 17-5 中：

許多研究家利用哺乳動物，鳥類及細菌做各種不同的實驗顯露在各種不同生組織中却行相同的生物合成路線。將見及該路線乃依各別原子的加成步驟添加在 5-磷酸核糖之碳-1 及形成中間性樞紐物，次嘌呤核貳酸 (inosinic acid)。可以寫出許多詳細反應，但勿相混淆且須說明生物化學反應之某些原則，早先說明在碳水化合物，脂質及氨基酸之代謝作用仍可引用於核酸及其衍生物的合成問題。



圖解17- 5

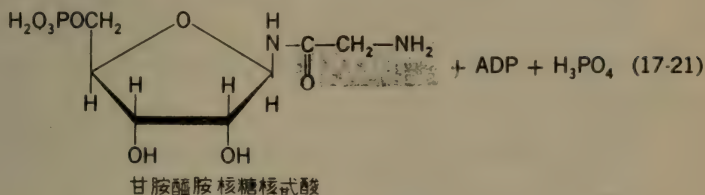
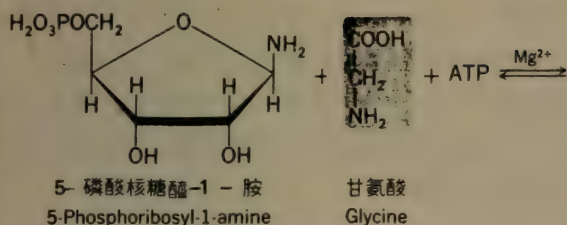
由嘌呤生化合成開始點為 α -5-磷酸-核糖醯基-1-焦磷酸化合物 (PRPP, 5-ribosyl-1-pyrophosphate), 此化合物乃由 ATP 及 5-磷酸核糖而成。



此酶為一激酶與此反應有關，即此酶可催化 ATP 之焦磷酸部分使之轉變為受體分子 5-磷酸核糖，而不斷催化終端之磷酸原子團。

然後 PRPP，即 α -5-核糖醯基-1-焦磷酸，在嘌呤生物合成之最初步驟中參與反應，穀氨酸醯基化合成 5-磷酸核糖醯基-1-胺，穀氨酸及焦磷酸。此乃穀氨酸醯基將其醯基之氮原子引入有機組合中。此酶即穀氨酸醯基磷酸核糖醯基焦磷酸醯基移轉酶 (glutamine phosphoribosyl pyrophosphate amido

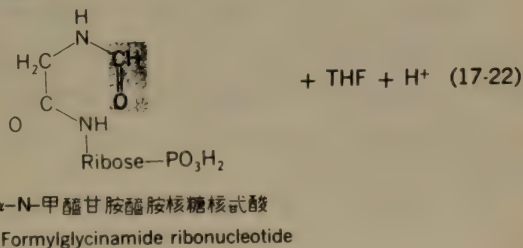
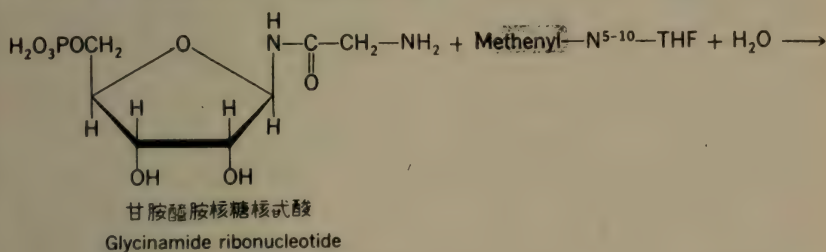
肽鍵 (peptide bond)



Glycinamide ribonucleotide

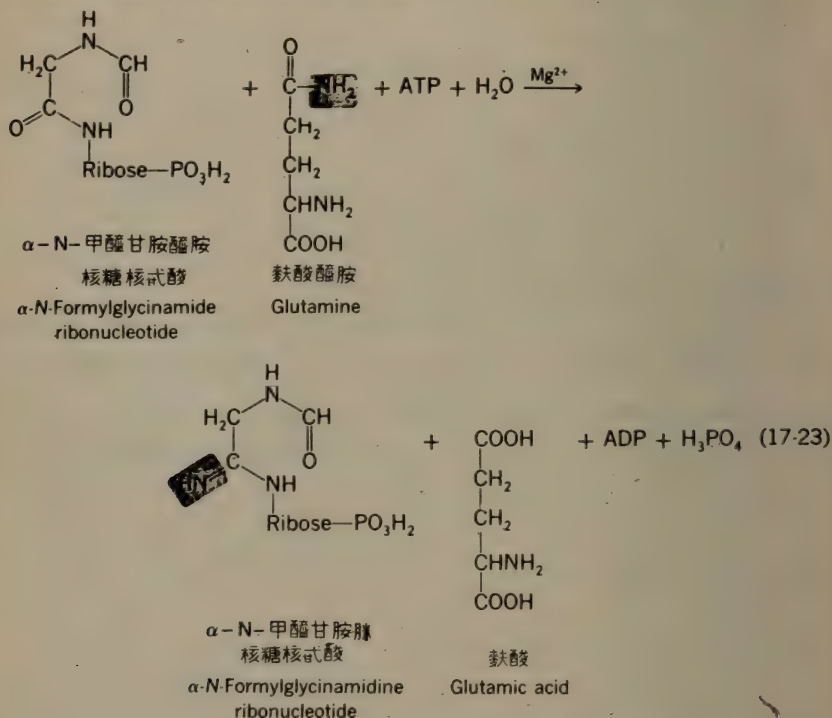
故此反應應需一由ATP供應之能源實無足驚異也。

在反應 17-21 中形成之甘胺醯胺核糖核武酸 (glycinamide ribonucleotide) 在甲醯基轉移酶 (transformylase), (即由甲醯基轉變輔酶催化轉變一甲醯基原子團之轉變酶) 之環境下將四氫葉酸之甲基 N^{5-10} (第 8-9 節) 需要葉酸輔酶之此反應及反應 17-29 轉變為甲醯甘胺醯胺核糖核武酸 (formylglycinamide ribonucleotide)

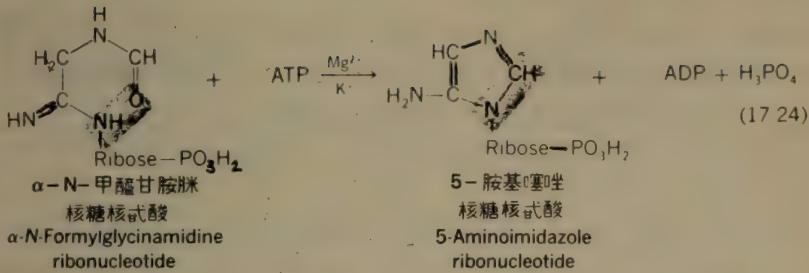


均被氨基蝶呤 (aminopterin) 及此維生素之其他對抗物 (antagonists) 所抑制。就此點嘧啶核之嘧啶圈 (imidazole ring) 之所有原子均與磷酸核糖部分相聯結，而後者將在連續之各反應中以核糖— PO_3H_2 形式出現。

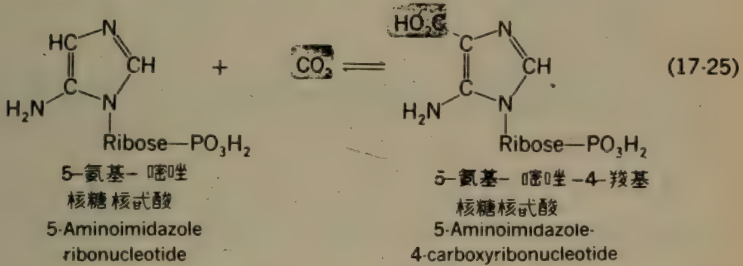
同時理應在此點具有封閉圈，次一反應乃涉及在嘧啶結構之 3 位置上加成一氮原子。可預料該氮乃在一能源 ATP 環境中，由麩酸醯胺之醯胺基原子團上供應。在如下之反應 17-23 之機程：



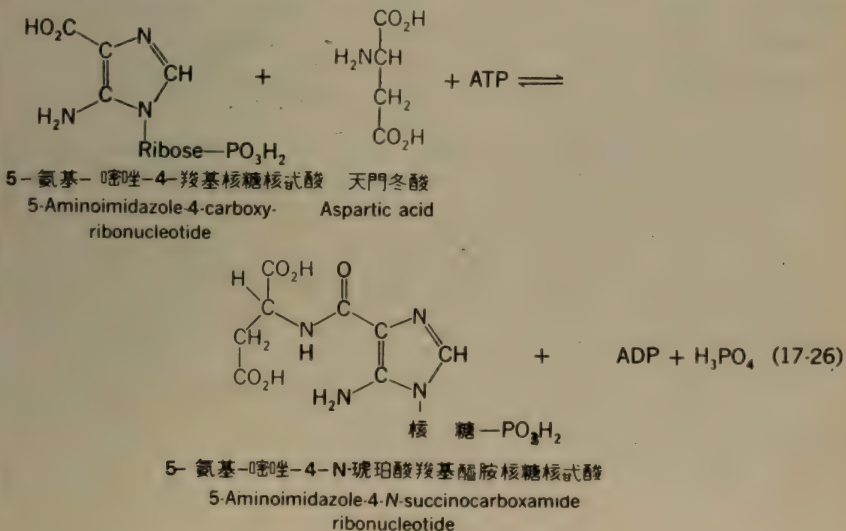
及許多其他機程，其中之氮原子傳遞至嘧啶或嘧啶架構上，則不詳。彷彿與麩酸醯胺之合成操作相似，（見 17-6.1.1 目）此中可能涉及一種磷酸化的中間物。此生成物 $\alpha\text{-N-甲醯甘胺胍核糖核貳酸}$ 可由尙不十分瞭解的需要 ATP 之脫水反應而成閉合環。在此步驟中，嘧啶核之嘧啶圈得完成，且 ATP 水解為 ADP 及 H_3PO_4 。



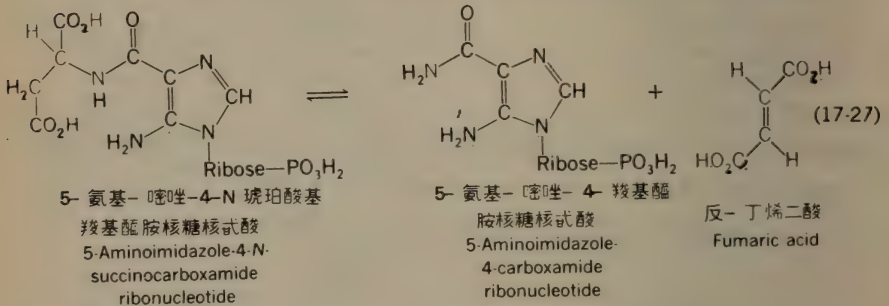
嘧啶核上尚餘之三原子亦有需要，在位置 6 上的碳原子可再被嘧啶核用 CO_2 羧化而成。此反應可望為一生物素輔酶系統 (biotin coenzyme system)，有證據謂一生物素需要細菌性酶來催化反應 17-25。



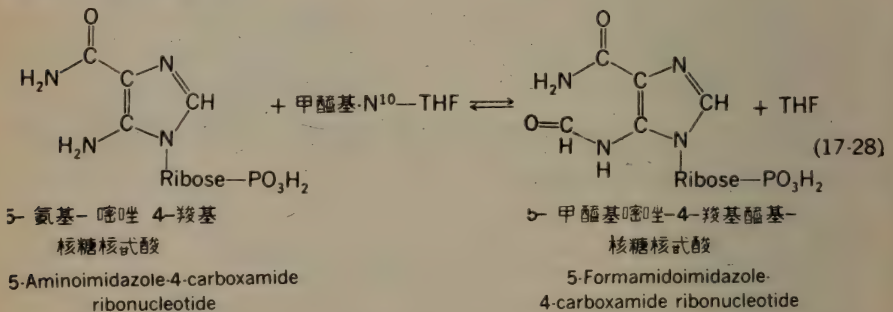
在途徑中之次一步驟為中間代謝中之許多反應中之一個，該中間代謝即以天門冬酸將一氮原子與之聯結：



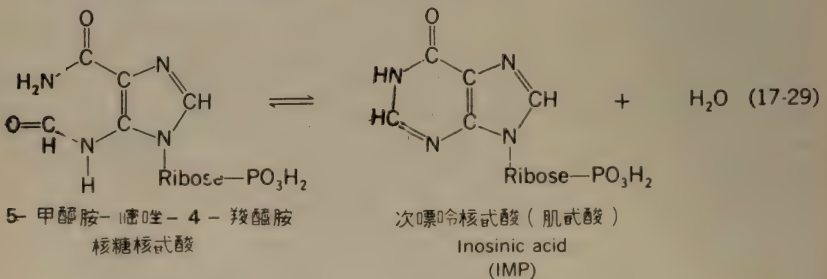
此程序與魚精氨基琥珀酸在脲素循環（反應 17-15）之合成頗有幾分類似，該處需要 ATP 為一能源。但此時裂解 ATP 為 ADP 及 H_3PO_4 。然後繼續將琥珀酸羧基醯胺衍生物再依天門冬酶型反應（反應 17-16）再斷裂為反-丁烯二酸。其方式與天門冬基琥珀酸之斷裂亦十分類似：



現在最後一個碳原子必須亦成為封閉圈。此原子乃經葉酸系統之一碳代謝作用為一甲醯基：

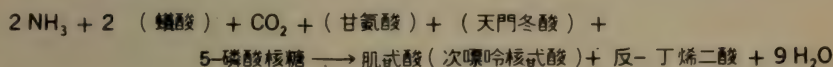


此反應亦可被氨磺醯抗菌素所抑制。故在一有催化去 H_2O 之酶的環境下於是相反的反應中形成此封閉圈

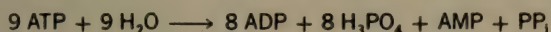


生成之次嘌呤核武酸在生物學物質中自由存在。但必然不是RNA或DNA之一成份也。

由17-20至17-29各式再併為一全反應，可書為：



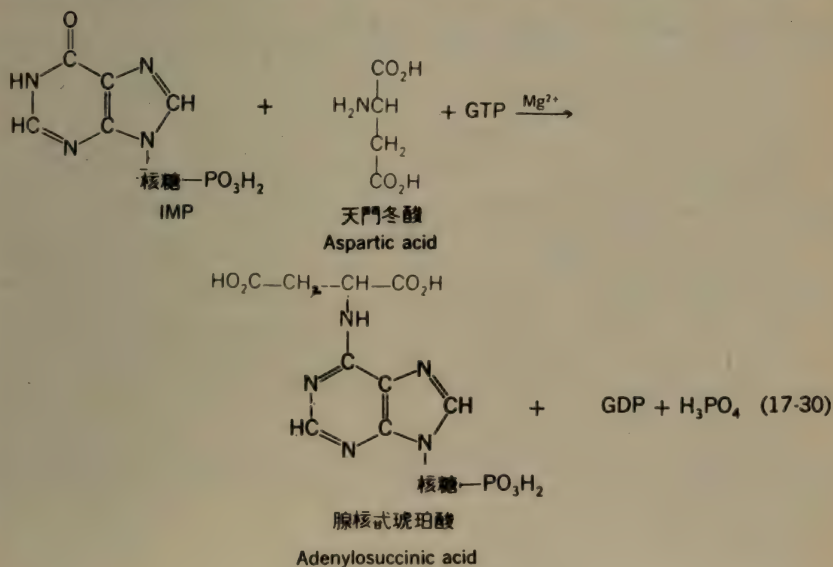
誠然完成此程序所需之能由ATP分子供應，而其中僅有一個分子斷裂而生成ADP及 H_3PO_4 。故有一明晰之實例顯示“能量豐富”之ATP能用於各個



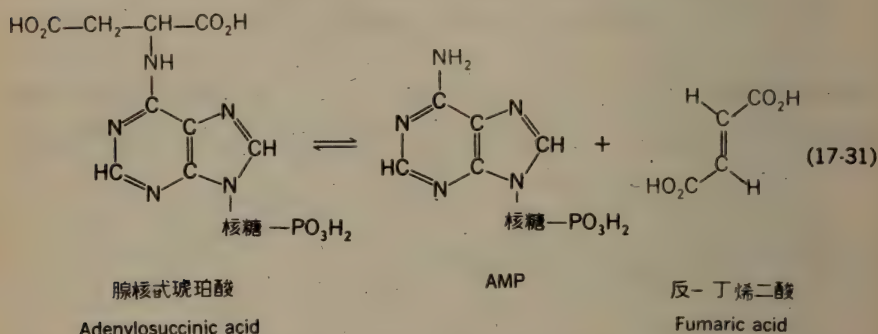
單獨反應中以完成一需能之生物合成程序。

17-16 嘌呤核武酸間之互變 (Purine Nucleotide Interconversion)

有兩種嘌呤核武酸AMP及GMP，均連續的由次嘌呤核武酸形成之，為嘌呤途徑之最初產物。在AMP場合，在其位置6的氮原子在一有關形成一

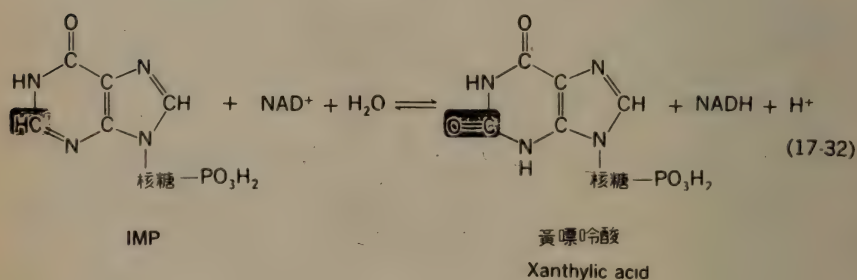


取代的琥珀酸反應中乃由天門冬酸而來。而此反應與反應 17-16 十分相似，但注意需要一不同的三磷酸核甙酸 (nucleoside triphosphate, GTP) 此取代的琥珀酸，再被一天門冬酸型反應所斷裂而生成反-丁烯二酸及 AMP。

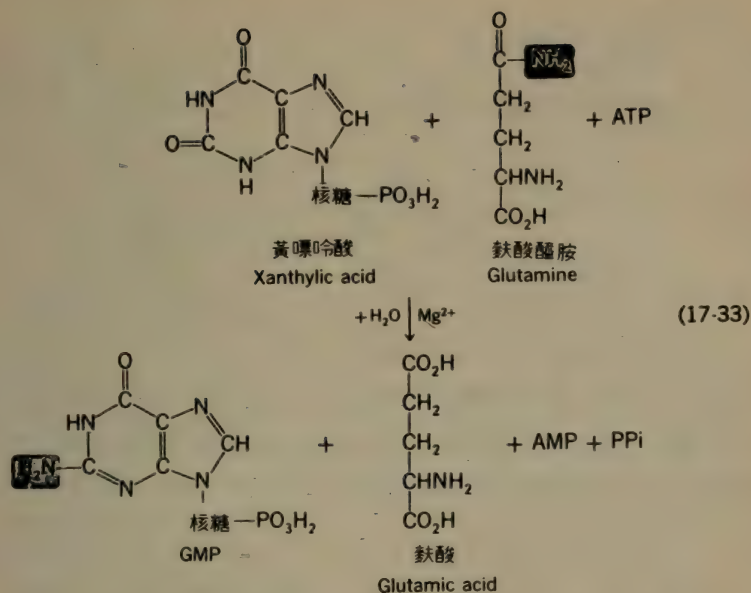


此反應與反應 17-27 類似，且此等酶類之催化兩種反應亦或相同。

在 GMP 合成場合，一個氮原子必須引進嘌呤核之 2 位置上。為此，在次嘌呤核甙酸內之此位置必須被氧化為高氧化態，俾此氨基易達此氧化程度。氧化反應由一需要吡啶核甙酸， NAD^+ 脫氫酶完成之。



一俟黃嘌呤酸 (xanthylic acid) 得到，其氮原子便需由羧酸鹽胺在使用 ATP 之反應中供應：

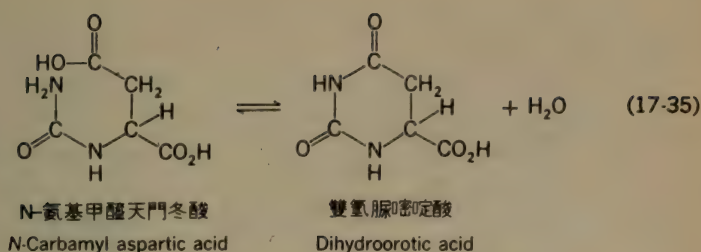


雖然生成GMP之反應機程並不完全明瞭，但AMP及焦磷酸均為ATP形成之生成物。

17-17 嘌呤核甙酸生物合成之調節作用 (Regulation of Purine Nucleotide Biosynthesis)

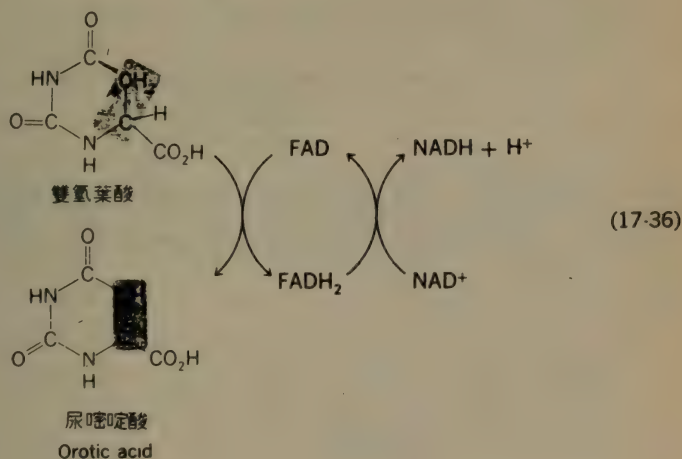
嘌呤單核甙酸生物合成之調節，發生在生物合成程序中之兩種不同的階段內。第一種控制在5磷酸核糖酸胺 (5-phosphoribosylamine) (反應17-20) 能視為生物合成途徑中之起始步驟。催化此反應之酶在一調節部位上被AMP及ATP所抑制，且在另一控制部位為GMP，GDP以及GTP所抑制。

第二種控制在支鏈化合物，肌甙酸 (inosinic acid)，能看出反應17-30最終導致AMP，需GTP，而反應17-32及17-33導致GMP，在最末反應中需要ATP。故當ATP過剩時，其較高濃度有效的導致產生更多GMP (及最終之GTP)。反之，過剩之GTP則導致一較高濃度之AMP，故又得ATP。

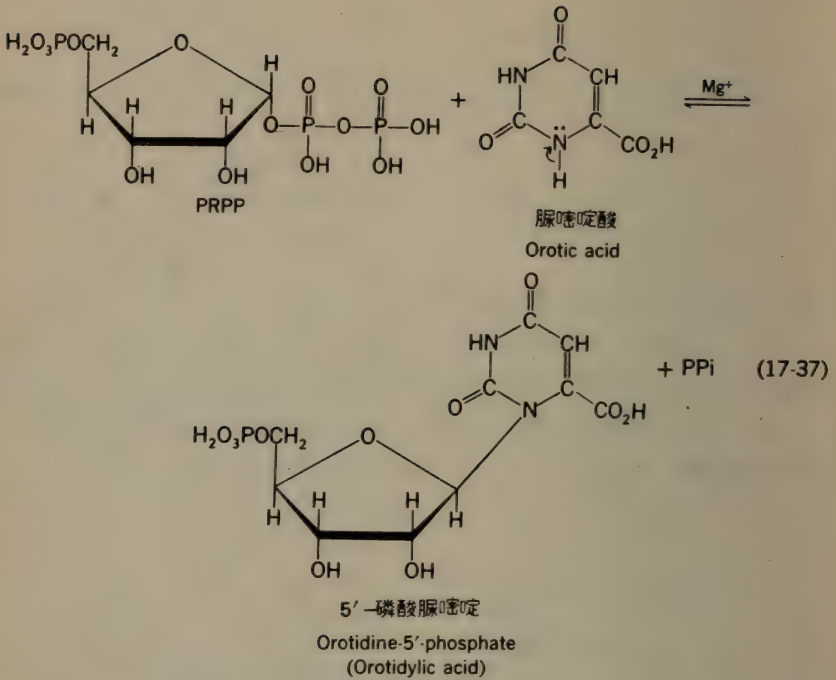


此脫水反應極易逆轉而得開鏈化合物，在平衡時二者之比值為 2 : 1。

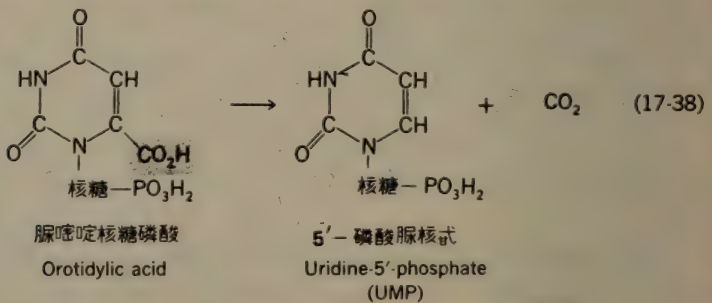
在次一步驟中，一種核黃素酶，稱為雙氫尿嘧啶酸脫氫酶（dihydro-orotic acid dehydrogenase），催化雙氫尿嘧啶酸的兩個氫原子由相鄰碳原子上除去，而產生尿嘧啶酸（orotic acid），此酸具有一個碳-碳雙鍵，而還原的黃素轉而被一種有關 NAD 之脫氫酶再氧化之。



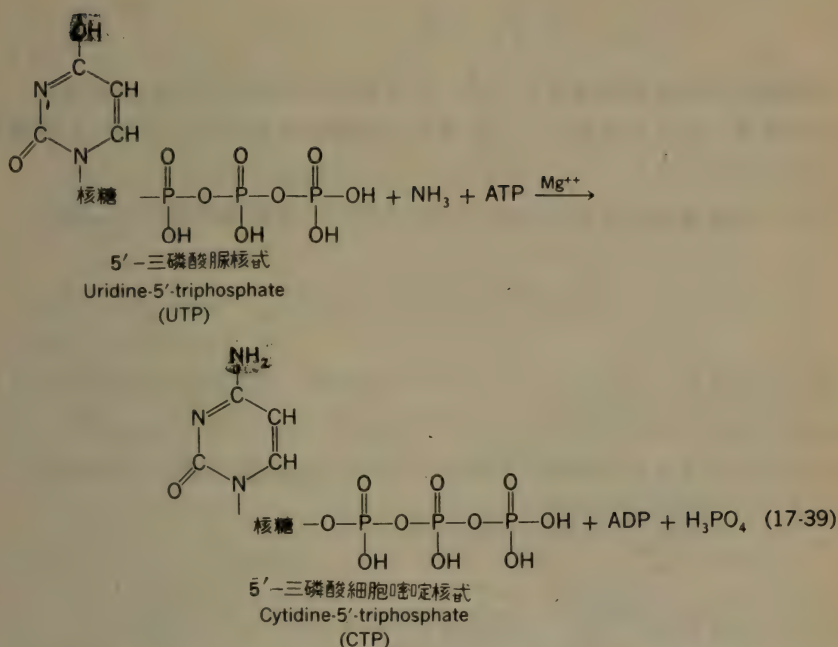
尿嘧啶酸與 PRPP 反應獲得 5-磷酸核糖基（—核糖— PO_3H_2 ）而變成核糖 5'-磷酸尿嘧啶。在此程序中，尿嘧啶酸之圖氮反應如一親核物俾置換 PRPP 之焦磷酸原子團而形成 β -N-葡萄糖糖鍵（ β -N-glycosyl bond）。



最後，腺嘧啶酸在一特殊去羧酶環境下行脫羧作用而生成腺核武-5'-磷酸 (UMP)。即細胞嘧啶核武及胸腺嘧啶失氧核糖武酸合成之起始點。



吾人可邏輯的希望對UMP之氨化而成CMP之機程應有存在。此等單磷酸可連續地磷酸化而產生雙-及參-磷酸鹽，而細胞嘧啶核武衍生物之產生需要由腺嘧啶核武而來之參磷酸，一種由細菌而來的酶可直接用UTP及氫行胺化作用而形成CTP，此程序所需之能則由ATP供應。

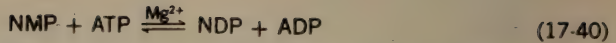


亦可望在如此反應中有中間物，而尚未偵測出來。在動物組織中此氮原子乃得自麩酸鹽胺。細菌的及動物的不同處顯露常見之觀察事實，即細菌能直接用氨，而在相同反應中，動物系統則需要麩酸鹽胺。觀察知動物易於處理毒性的氨分子用脲循環之生化合成程序，而細菌及其他下等生物則可忍受且使用 NH_3 。在細菌中此合成即反應 17-39 所示者。

早已注意，嘧啶核式酸之生物合成是最初被調節的，乃是透過 CTP 之作用在天門冬酸氨基甲醯移轉酶（aspartate transcarbamylase）上而成的。此酶催化生物合成程序中之第一個反應（反應 17-34）。

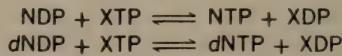
17-19 二磷酸鹽類及三磷酸鹽類之合成（Synthesis of the Diphosphates and Triphosphates）

一旦嘌呤及嘧啶核式之一磷酸鹽合成完成後，便易廣續形成二-及三-磷酸鹽類。有特殊之激酶來催化由 ATP 將磷酸傳遞至特殊的核式-磷酸鹽 NMP（nucleoside monophosphate NMP）：



此等激酶對各個鹽基為高度特效的，但所用的不是核糖或脫氧核糖。核糖二磷酸鹽之合成是有利的，因藉氧化性磷酸化作用可移去ADP及廣續磷酸化為ATP。

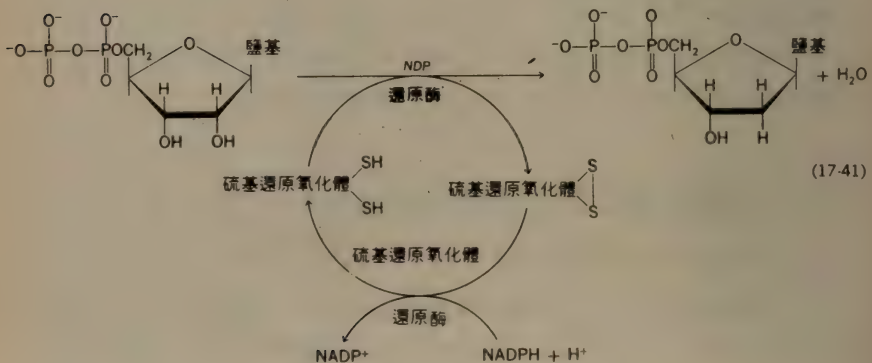
而三磷酸鹽能由核糖二磷酸化作用在核糖二磷酸鹽激酶環境下形成：



此酶在自然界中是無所不在的，而且十分不特殊，顯示對任何特殊鹽基或對核糖而非脫氧核糖無所選擇。給予者（XTP）往往是ATP，且其他三磷酸鹽（NTP）之合成也因細胞之能夠由ADP藉產生能量的磷酸化作用程序而再形成ATP來推動此反應。

17-20 脫氧核糖酸之形成 (Formation of Deoxyribotides)

DNA合成需要四種脫氧核糖核糖酸三磷酸鹽之有效性使此等物質為此生物聚合物之先質。生物化學的統一性（單純性）已在此程序中顯示出來，



此中只需要一個附加的反應便產生此等化合物而不是一組與前兩節中類似生物合成的反應。反應雖顯然簡單，但詳情也是現在才清楚的。

在大腸菌中酶類，核糖核貳二磷酸還原酶 (ribonucleoside diphosphate reductase) 催化如上反應。

此還原劑 (被還原的硫基還原氧化體) 是一種小的 (108個氨基酸) 相當簡單的聚肽，用做一種氧化-還原載體。活化基為兩個半胱氨酸殘基能被氧化成一胱氨酸 (cystine) (S-S) 部分。被氧化的硫基還原氧化體被 NADPH 在硫基還原氧化體還原酶 (thioredoxin reductase)，一種黃素蛋白質環境下再行還原。

大腸菌之二磷酸核糖核貳還原酶 (ribonucleoside diphosphate reductase) 為一非均勻聚合物，含非正鐵血紅朊。它能還原四種天然核糖核貳酸 (ribonucleotides) ADP, GDP, CDP, 及 UDP。

在動物組織，瘤細胞，以及高等植物中均發現此酶，彷彿在此大腸菌中一硫基還原氧化體乃還原劑，而受質為二磷酸鹽。在各種准核物質，乳酸桿菌 (lactobacillus)，梭菌屬 (clostridium)，假單胞菌 (pseudomonas) 以及有芽胞桿菌屬 (bacillus) 中之其他還原酶與還原反應之受質諸如核貳三磷酸不同，且還原酶為一維生素 B₁₂ 之輔酶形式，5,6-二甲基苯並咪唑鈷鹽胺輔酶 (5,6-dimethylbenzimidazole cobamide coenzyme)。此輔酶完成還原反應乃催化氫之移動，這涉及腺核貳部分之 5'-亞甲 (5'-methylene) (見第 8-10.3 項)。

將一核糖核貳轉變為一脫氧核糖核貳，實際上，是一脫氧作用在生物化學中是罕見的。而如此反應可能藉脫水再脫氫，或藉磷酸作用及取代作用 (用一氫化物離子) 再發生。此等機程均不涉及脫氧核糖核貳之形成。—OH 基像是直接被還原而無任何中間體。

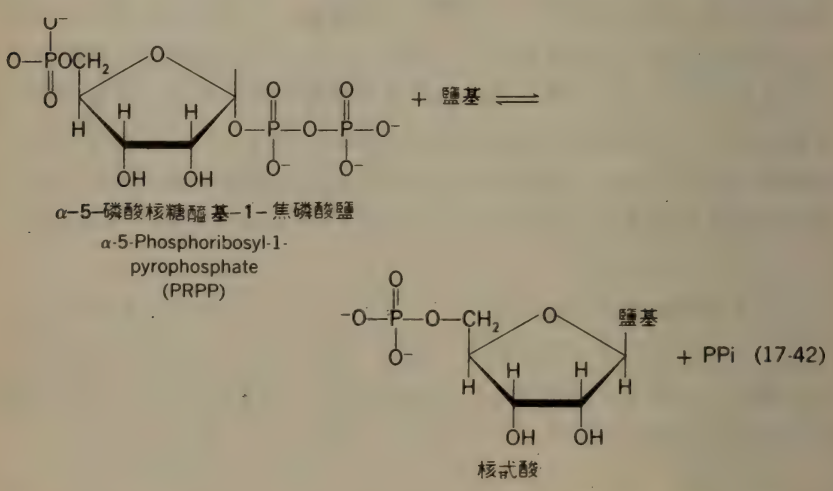
17-21 胸腺嘧啶生物合成 (Thymin Biosynthesis)

脫氧胸腺嘧啶核貳酸 (deoxythymidylic acid), dTMP, 乃由脫氧尿嘧啶核貳酸 (deoxyuridylic acid), dUMP, 經胸腺嘧啶核貳酸有關 ATP 之合成酶 (thymidylate synthetase) 及四氫葉酸 (tetrahydrofolic), THF, (在第 8-9.3.2 目已敘述) 而產生的。THF 做為一碳及氫之給予者。再者，

鈷鹽胺輔酶 (cobamide coenzyme) 也在此反應中有關。葉酸需要的程序被氨基喋呤 (aminopterin) 及 10-甲基-4 氨基葉酸 (amethopterin) 所抑制。

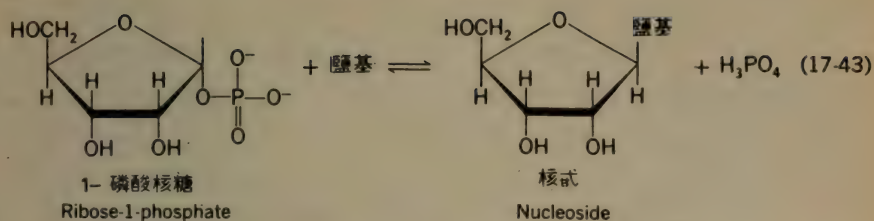
17-22 對喋呤及嘧啶核甙酸類修復途徑 (Salvage Pathway for Purine and Pyrimidine Nucleotides)

已見前述喋呤及嘧啶之合成需要相當量的能量，乃因其有周而復始的性質，即謂由各簡單的聚合元 NH_3 , CO_2 , 蟻酸，甘氨酸，以及天門冬酸所合成的。故若此等錯合的氮鹽基類係在 DNA 及 RNA 過程中斷裂而形成的，則讀到有機體已進化至對於救助或修復此等錯合物有一途徑就不會驚奇了。有許多反應用來修復由更進一步斷裂而來的此鹽基。其中之一種反應乃是用一種酶稱為核甙酸焦磷酸化酶 (nucleotide pyrophosphorylase) 所催化的：



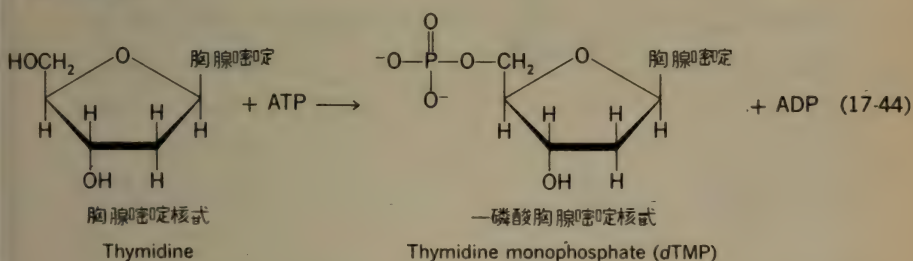
此反應易於逆轉，但實際操作由左至右因無所不在的焦磷酸解酶 (pyrophosphatase) 作用可水解已形成的焦磷酸。此酶使用喋呤鹽基，腺甙，及鳥甙 (guanosine)，且在若干細菌及尿嘧啶中。

第二種修復反應是以核甙磷酸化酶 (nucleoside phosphorylase) 的催化：



此酶不是與 1- PO_4 核糖便是與 1-磷酸-2-脫氧核糖作用。磷酸化酶已經陳述不是與嘌呤（次黃質，即 6 羥基嘌呤，及鳥嘌呤）便是與嘧啶（尿嘧啶及胸腺嘧啶核甙）化合。

第三種修復反應是以一核甙激酶（nucleoside kinase）所催化，對於胸腺嘧啶核甙及 ATP 相當有特效。在此種程序中，形式上與己糖激酶（hexokinase）類似（第 10-4.1 項），用一含能豐富的磷酸鹽來產生一個低能量的磷酸酯。



然而其他之此類反應尚可列舉，以前已有若干構想，即有機體進化至保持核酸的氮-鹽基聚合元。在此等實例中一細胞暫時不能周而復始的形成嘌呤類及嘧啶類，此等救助反應均對於 DNA 及 RNA 合成保持供應聚合元不致匱乏。

摘要：在圖 17-4 中摘錄 RNA 及 DNA 合成中對三磷酸核甙合成所需要的許多反應。

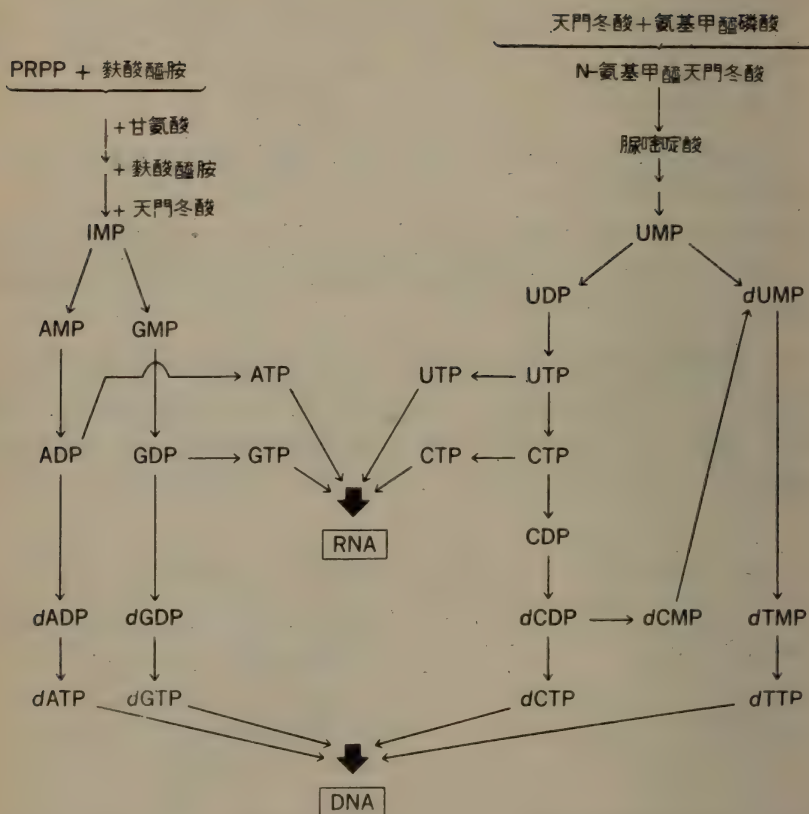


圖17-4 核甙酸及核酸之合成的關係。字首d表示脫氧(deoxy-)故AMP含有核糖部份，但dAMP含有一脫氧核糖部份。雖在若干組織中核糖核甙之磷酸均直接還原為其脫氧衍生物，為簡明計此等反應未列入。

參考文獻

1. A. Meister, *Biochemistry of the Amino Acids*, vols. I and II. 2nd ed. New York: Academic Press, 1965.
在此生化研究的領域中是兩冊工作報告的標準參考資料。
2. D.M. Greenberg, *Metabolic Pathways*, vol. 3. New York: Academic Press, 1969.

在此有關代謝作用的 Greenberg 叢書中有許多章是討論特殊氨酸的代謝問題，此書同時涵蓋分解代謝及生物合成。

3. J. O. Stanbury, J. B. Wyngaarden, and D. S. Fredrickson, eds., *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 1972.

此書澈底提供有關與氨酸代謝有關代謝疾病之報導。

4. P. P. Cohen and G. W. Brown, Jr., "Ammonia Metabolism and Urea Biosynthesis," in *Comparative Biochemistry*, M. Florkin and H. S. Mason, eds., vol. 2. New York: Academic Press, 1960.
- E. Baldwin, *An Introduction to Comparative Biochemistry*. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1964.
- J. W. Campbell and L. Goldstein, eds. *Nitrogen Metabolism and the Environment*, New York: Academic Press (1972).

有關氮代謝之比較的及發展的情況，並包括排泄在內一併討論。

5. S. Prusiner and E. R. Stadtman, *The Enzymes of Glutamine Metabolism*, New York: Academic Press 1973.

是有關穀氨酸代謝作用多方面情形的論文集。

6. A. Kornberg, *DNA Synthesis*. San Francisco: W. H. Freeman 1974.

此書對於主要從事於 DNA 合成的人士是一本超水準的著作。

習 題

1. 當氨基丙酸 (alanine) 以 ^{15}N 標識後飼養一鼠，其排泄之尿素中含有 ^{15}N 在氮原子內。試用已知之酶反應，說明何以此轉變能發生。
2. 試述兩種不同酶催化反應，其天門冬酸之氨基是消失了的 (即謂此天門冬酸能“被脫氨”)。
3. 何種化合物與腦磷脂 (cephalin) 及磷脂鹽乙醇胺 (phosphatidylethanolamine) 之乙醇胺 (ethanolamine) 部分之中間體先質最相像？寫出產生乙醇胺之酶催化反應，及此酶之名稱。
4. 說明何以植物不需要產生尿素却含有近乎所有尿素循環之酶類？

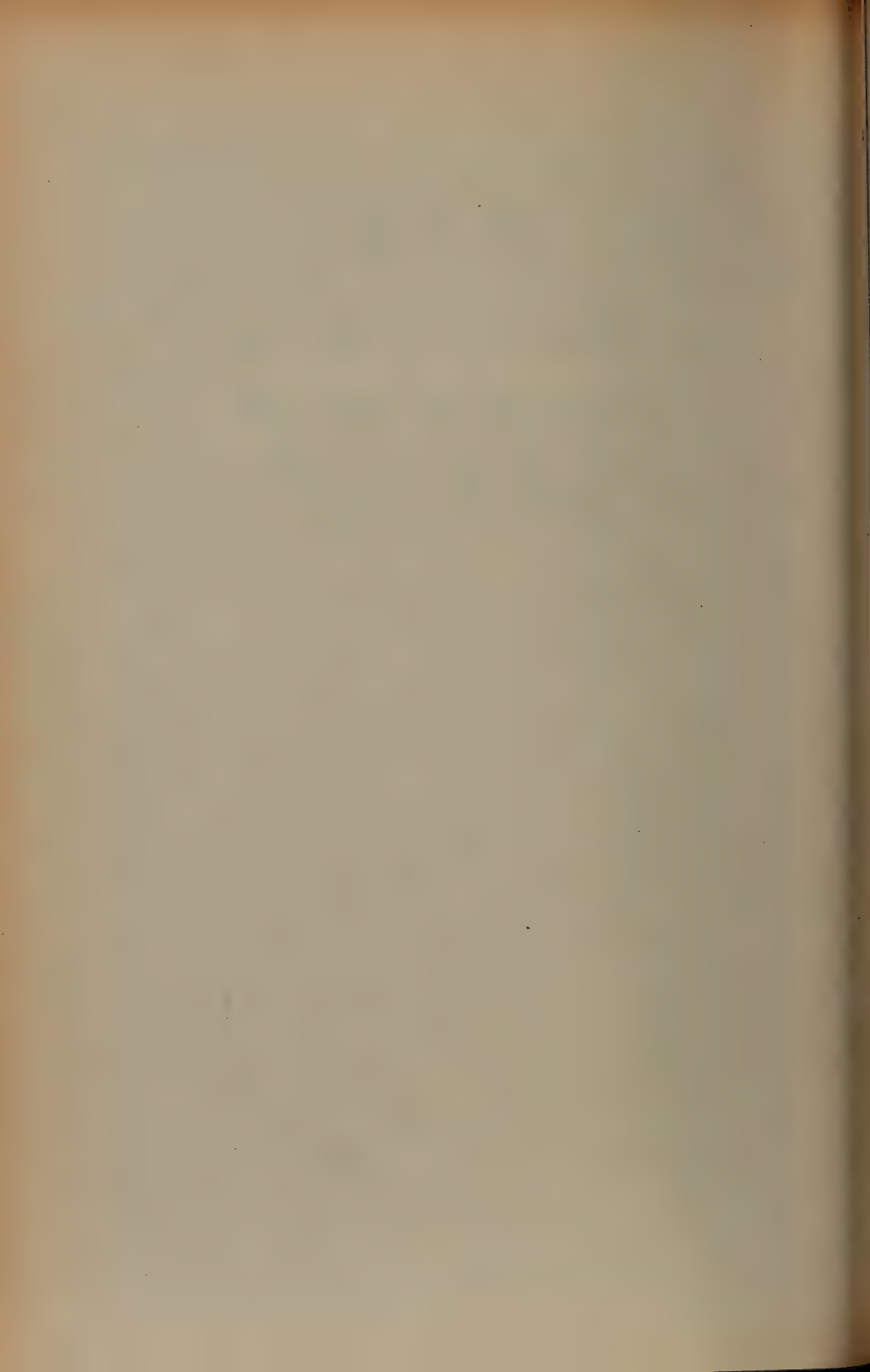
5. 寫出四種不同的酶催化反應，藉此無機氮（即氨）能不介入有機分子中。
6. α -氨基己二酸（ α -aminoadipic acid）爲一六碳， α -氨基二羧酸。

寫出一類似的酶催化反應，藉此 α -氨基己二酸可由細胞中常見的中間體（即糖解中間體，TCA循環中間體， β -氧化性中間體，以及普通氨基酸）合成之。

第三篇

資料性分子之代謝作用

METABOLISM OF
INFORMATIONAL
MOLECULES



第十八章

核酸類之生物合成

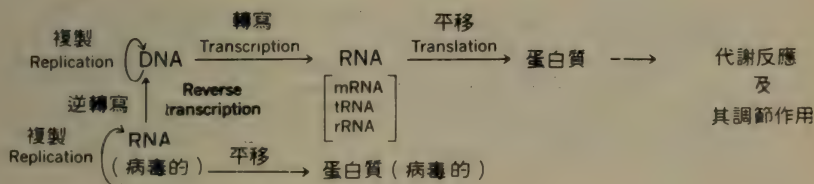
Biosynthesis of Nucleic Acids

目標 讀者應首先重讀第五章以溫故而知新。然後本章介紹有關複製 DNA 的新知識（一種迅速開拓領域的新知識）即變種（mutations 又稱突變）的生物化學，重要的機程，在所有細胞中對於 DNA 之複製被物理程序（UV 及 X - 輻射線）所損害的，然有結果有此 RNA - 轉寫程序（RNA - transcription process）的討論。此章也做為瞭解第十九章及廿章的重要背景。

18-1 引言（Introduction）

在第十八至廿章中將討論各種步驟均與如下各事項有關：即資料性生物聚合物（informational biopolymers）之合成，由 DNA 對資料的流通，細胞使用此最初的載體至蛋白質之機程，此資料之最終產物，以及細胞能籍稱之謂酶類的特殊蛋白質之控制來調節其代謝作用。

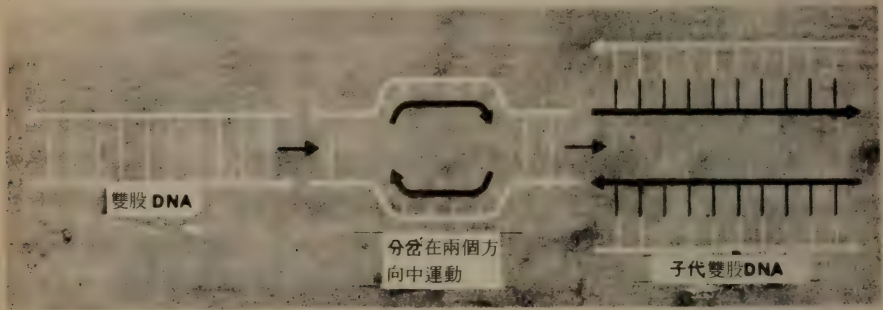
此等構想可分數部分陳述之：



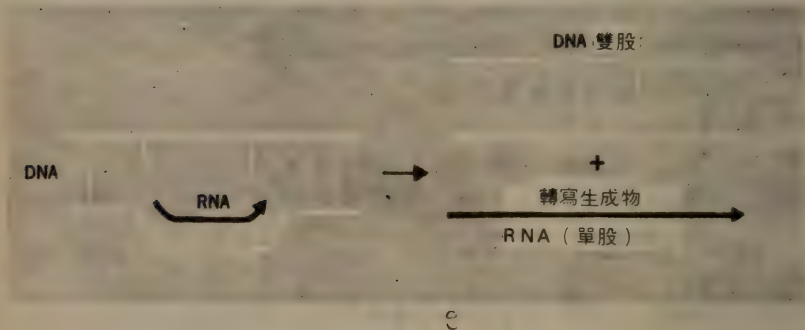
18-2 定義（definitions）

在陳述以上反應之前首先需訂定各項定義。

〔複製〕 (Replication) : 是一種程序, 雙股的父代 DNA 其每一股以相補的核式酸鹽基對 (base pairing) 做精密的複製。故產品為二條雙股 DNA 與父代的雙股相同



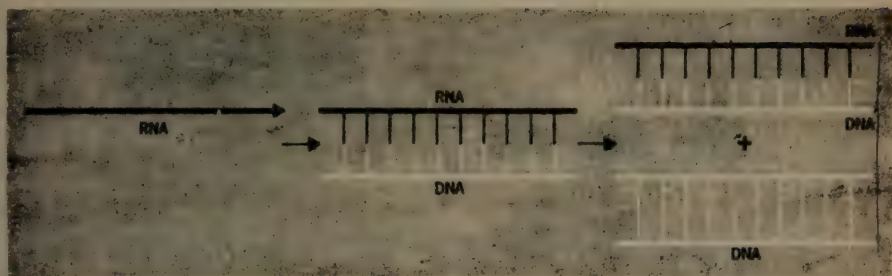
〔轉寫〕 (Transcription) : 是一種程序, 在 DNA 中所含之資料被鹽基對所複寫而形成核糖核式酸 (*ribonucleotides*) 之相補順序, 一種 RNA 鏈:



〔平移〕 (Translation) 為一複合的程序由 DNA 將資料轉寫進入一 RNA 之特殊型式, mRNA 中, 對蛋白質合成, 引導之朝特殊氨酸的有順序聚合作用之方向進行。

〔逆轉寫〕 (Reverse transcription) 涉及在 DNA 處使用 RNA 為基

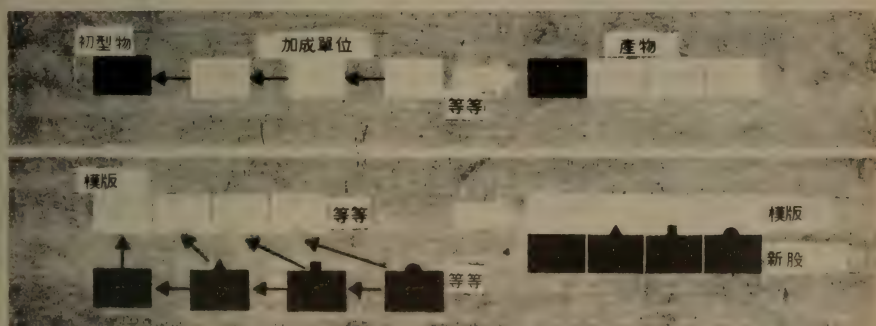
因的資料，以合成新的雙股 DNA 。

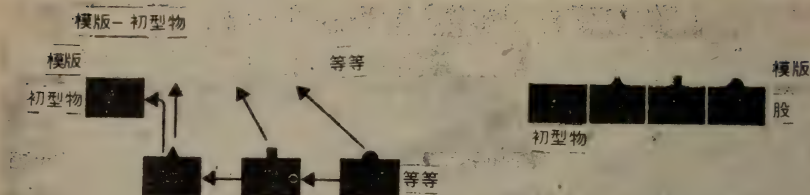


〔模版〕（Template）有關核酸之一種相補股的合成，DNA 或（RNA）鏈提供精確的資料。RNA 合成需要一 DNA 模版；對於 DNA 複製，一 DNA 模版只是所需要的一半，將在討論複製時看出（第 18-3 節）。

〔初型物又稱引物〕（Primer）：在生物化學中乃一分子之初發的終結點（initial terminus），在該點上添加加成的單位後便產生最終產物。故，在糖原生物合成中初型物為一小的多糖，在其上添加葡萄糖基（第 10-10-4 項）；在脂肪酸合成中，乙醯基 ACP 為初形物及蘋果醯基為加成單位（第 13-10 節）；在 DNA 複製中，小的多核糖核甙酸首先與 DNA 形成者為一模版，然後再對子代 DNA 股之合成為了添加脫氧核糖核甙酸而為一引物。

此等構想說明如下：





18-3 複製 (Replication)

直至最近才陳述這種生物學中關鍵性程序，所謂 DNA 分子之忠實拷貝 (copying, 複本)，的詳細知識仍極微小。然自 1972 年，在此領域中已有新知識的文獻發表。此程序即依據用小的圓形單股 DNA 分子 (small circular single-stranded DNA molecules) 及細菌的酶類所做實驗來描述的。現在少數用生化的術語來介紹有關真核有機體的複製問題。但，所陳述的機程是完全好像言之成理的，誠然能同時在准核的及真核的有機體中表示基本的步驟了。

茲將有關入門途徑，討論如下。

18-3-1 複製是半守恒的 (Replication is Semiconservative) 在複製中，DNA 之股將分離而 DNA 的新的相補股將由四種有效的三磷酸脫氧核糖核貳酸類與之集合在兩條分離的父代股的每一條上。假定鹽基對是精確的，可得兩個新的 DNA 分子應與原來父代分子相同的。此型之複製稱為“半守恒的” (semiconservative)，由圖 18-1 及 18-2 示明。另一可能性是最終複製產物是由原來兩條股之一條雙螺旋與一造成新合成鏈的一條第二雙螺旋構成的。此程序稱為複製的“守恒型” (conservative type)。第三種可能性稱為“分散的” (dispersive)，若父代 DNA 之核貳酸在子代 DNA 物料之成分中無秩序的散佈，則可發生此型，如此則新的 DNA 由新舊散佈的核貳酸沿鏈成為一混合體。

欲試驗此等可能性的機程，Meselson 及 Stahl 兩氏在 1958 年在一個只有 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 為氮源之基質 (medium 中培養大腸菌。在若干代成長後，再

加 $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ ，且在短間隔內移去細胞；將 DNA 仔細萃取，且由平衡密度梯

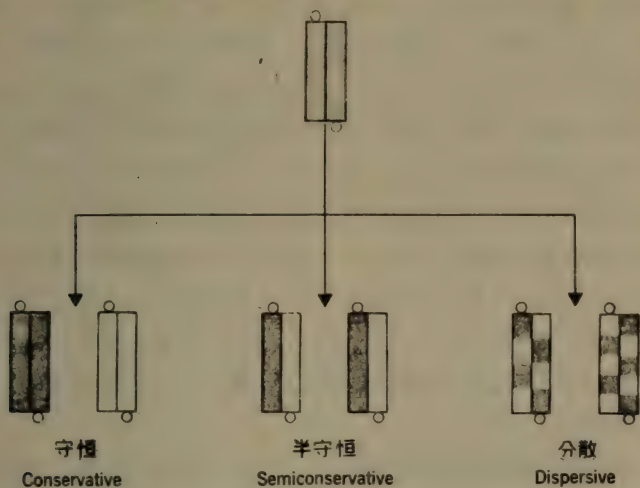


圖18-1 複製的型式。

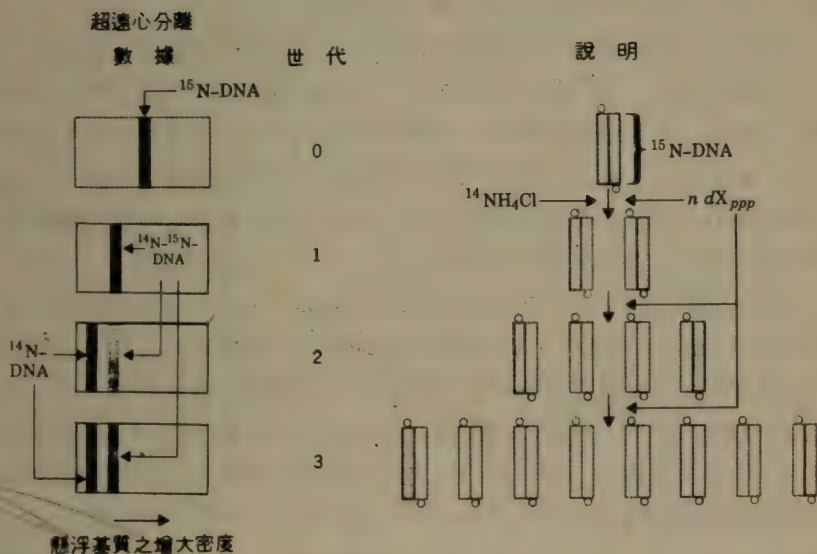


圖18-2 Meselson 及 Stahl 兩氏實驗證明DNA 之半守恆複製，在每個圖解的DNA 之末端上的小圓圈指示為DNA 之反平行性質。

度遠心分離法分析 ^{14}N 及 ^{15}N 之相對含量。結果由圖 18-2 中示明肯定地刪除了分散機程。尚有其他證據，其各個結果均強力支持複製之半守恒機程。

18-3-2 複製之起始 (Initiation of Replication) 複製是不連續的，而且總是發生在雙股 DNA 之每一股上 $5' \rightarrow 3'$ 的方向中。此程序沿雙股之許多點上開始；但對於開始的發軔，爲了聚合酶的發生功能雙股必須首先分離開單一的股。假定在許多點上，唯有准核的及真核的有機體之低分子量 ($\sim 35,000$) 的蛋白質特殊的鍵聯在二股中之一股上。鍵聯呈現與 A - T 鹽基對中雙股豐富的區域有關係。因 A - T 鹽基對之氫鍵能量低於 G - C 鹽基對者 (第 5-6-2 項及 5-9 節)，此等區域呈現更易遭受“熔融”或由雙股更易轉變爲單股的 DNA。此等蛋白質稱爲“非繞組的蛋白質” (unwinding proteins) 對於起始作用也和對於複製的繼續作用一樣是重要的。此程序以圖 18-2 a 說明之。

一種新近發現的黴類, Rifampicin, 是一種強力的藥劑, 能防止轉寫, 因它能顯著地抑制 RNA 聚合酶。有很好的證據知此藥物也在“活體內”及“活體外” (in vivo and in vitro) 封閉 DNA 的複製。但抗 - rifampicin, RNA 聚合酶突變型, 則不顯示此效應。

此等結果現在已能容易的解釋。在活體外有優良的證據謂起始程序乃涉及一不連續的合成, 這是藉一種長度不大的混成雙股 RNA 聚合酶所完成的 DNA 模版具 RNA 初型物轉寫。假定非繞組的蛋白質已存在 RNA 轉寫單位有大小範圍由 50 至 100 個殘基現在變成對於 DNA 複製之初型物了。故此初型物具有一個三磷酸鹽殘基在其 $5'$ 位置, 及一個自由的 $3' \text{OH}$ 末端。DNA-RNA 雙股之圖解見圖 18-2 b。

今在全酶 DNA 聚合酶 III (holoenzyme DNA polymerase III), 一種多重次單位的蛋白質 (a multisubunit protein.) 環境下, 發生延長作用。與初型物模版形成活性錯合物時需要此酶之一種成份, 輔聚合酶 III* (copolymerase III*), 及 ATP 而非繞組蛋白質也必須存在。現在延長作用開始, ATP 乃分裂爲 ADP 及 P_i (任務爲何不知曉), 脫氧核糖核甙酸乃在適當位置上藉成長的 RNA-DNA 鍵的終結末端與一親核的接觸。一俟輔聚合酶 III* 再度不需要時, 乃分解, 且新的 DNA 聚合酶 III 將催化此更進一步的延長作用在一個 $5' \rightarrow 3'$ 方向中進行直至約有 500 至 1000 個脫氧核糖核甙酸殘基添加了爲止。子代股之形成是不連續的, 而 RNA-DNA 之段片

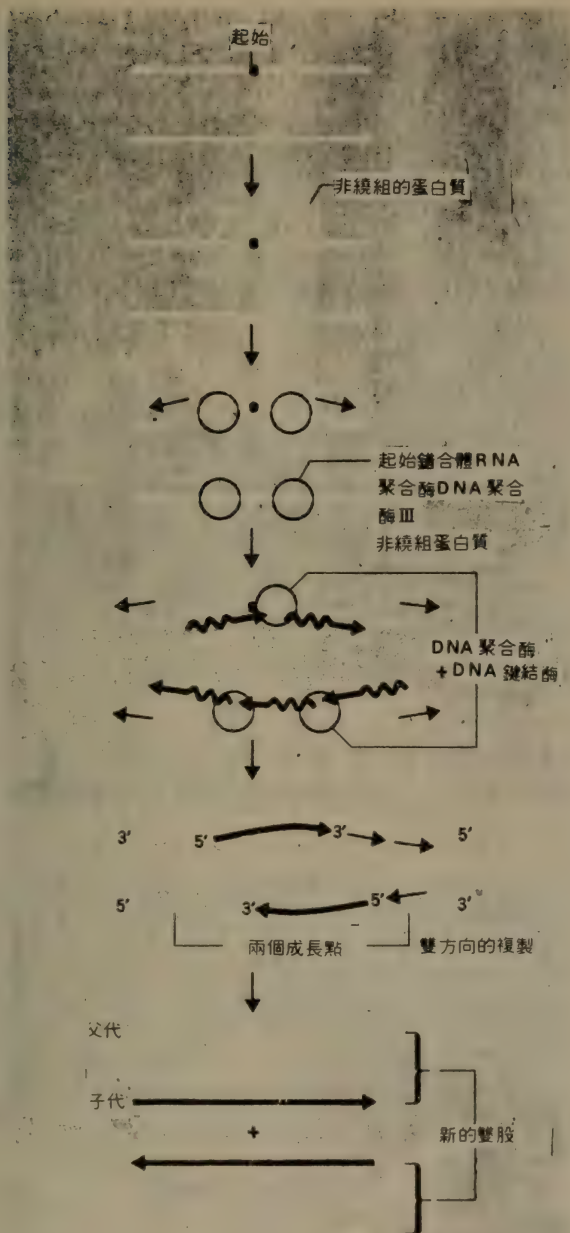


圖18-2a

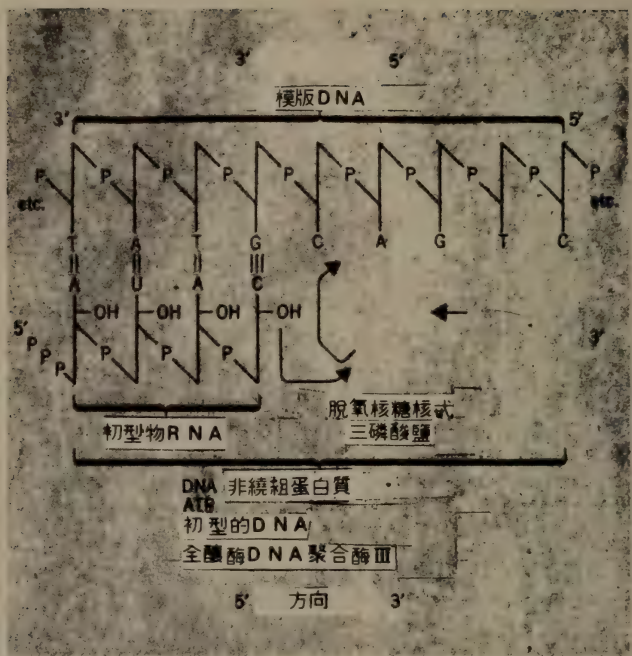


圖18-2b

在一廣續方式中建立了：見圖 18-2 c 所示

RNA-DNA 段片 (RNA-DNA fragments) 又稱岡崎段片 (Okazaki

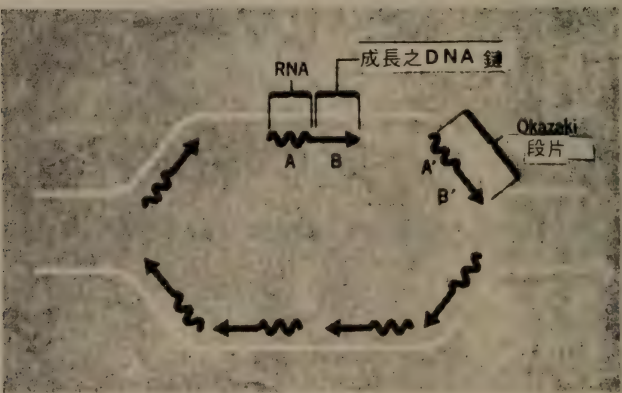


圖18-2c

fragments) 因係生物化學家日人岡崎 (Okazaki) 首次由大腸菌細胞中分離出來且在 1968 年提出不連續 DNA 複製機程, 以解釋此觀察現象。

18-3-3 終止作用 (Termination) DNA 鏈成長且互相接近, 即謂 3'OH 結尾接近 5'ppp 結尾 (A'), 見圖 18-2 b. 必須發生三項事故; (a) RNA 初型物段片的切斷; (b) 以脫氧核糖核甙酸殘基填補在剩下的裂縫中, 及 (c) 以磷酸二酯鍵熔合 DNA 段片而形成一連續的 DNA 子代股。DNA 聚合酶 I, 即 Kornberg 氏在 1955 年於大腸中發現的酶, 其功能到近年來仍

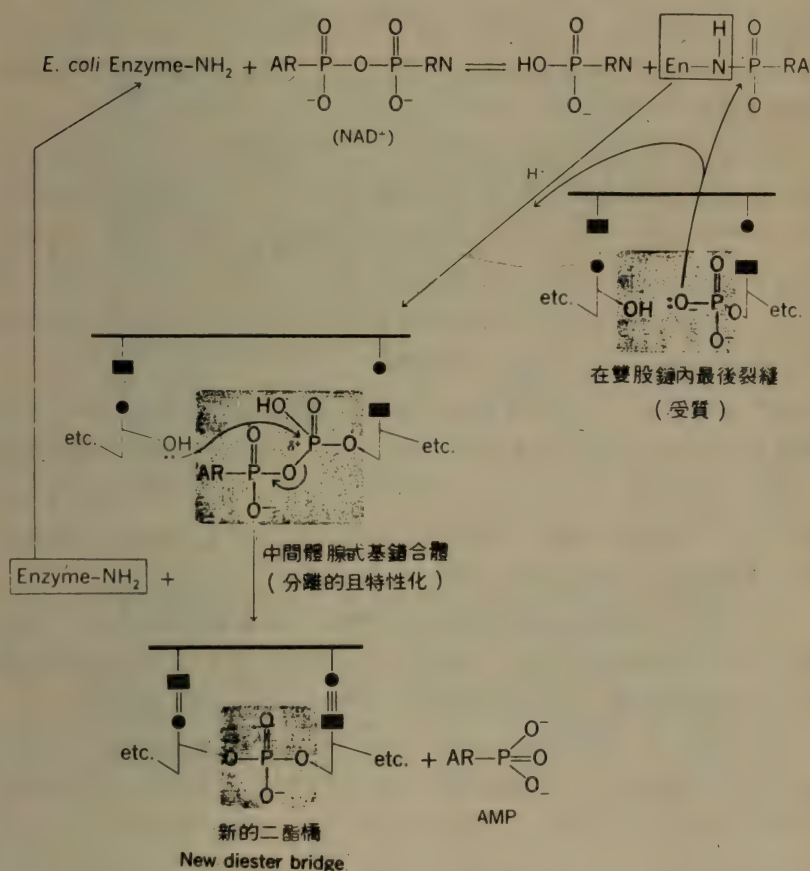


圖 18-3 DNA 鏈結酶閉合 DNA 複製中之最後的裂縫。

不能肯定，反而是唯一的酶能藉 $5' \rightarrow 3'$ 外核酸水解酶 (exonuclease) 之程序及聚合酶之活性完全滿足(a)及(b)之需求。

DNA 聚合酶 I 之此等兩種關鍵的活性，即(a) RNA 段片 (原始初型物 - 模版雙股) 之移除是利用 $5' \rightarrow 3'$ 外核酸水解酶活性 ($5' \rightarrow 3'$ exonuclease activity)，及(b)利用此聚合酶活性填充裂隙準備為終結步驟幾乎完成複製之順序，再利用一種特殊的酶，DNA 鏈結酶 (DNA ligase)，將 $3'OH$ 末端與 $5'ppp$ 末端熔合。

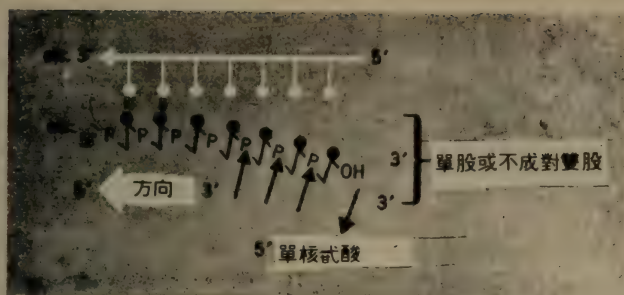
此酶普遍存在於准核的及真核的有機體中。在大腸菌中此酶需要 NAD^+ ，產物為 $5'$ -腺甙酸及菸醯胺單核甙酸 (nicotinamide mononucleotide) 而在動物細胞中 ATP 為所需要的，且 $5'$ -腺甙酸及焦磷酸鹽均為產物，機程對鏈結酶之各型均較常見在圖 18-3 中示明。

茲討論 DNA 聚合酶 I 之獨特的性質。大腸菌酶之分子量為 109,000，且為一基體 (monomeric)。此蛋白質對所有四個有一個束合部脫氧核糖核甙酸位，對於模版 DNA 則有一束合部位，對於成長的初型物有一個部位，對於結尾核甙酸殘基之 $3'-OH$ 原子團有一個部位，對 $3' \rightarrow 5'$ 有一部位以及對於 $5' \rightarrow 3'$ 有一個部位。尤有進者聚合酶堅強的束合，俾在 DNA 雙股上斷裂或切斷，在切割點能催化一切斷平移的程序 (見圖 18-4)。

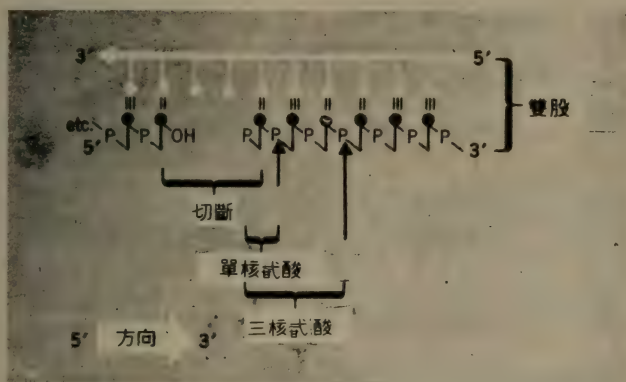
此酶之 $3' \rightarrow 5'$ 外核酸水解酶活性非常特殊，此中僅一個 $3'OH$ -脫氧核糖型象是認出的。產物均僅為 5-單核甙酸。 $5' \rightarrow 3'$ 外核酸水解酶活性則殊少特性，此中 DNA 或 RNA 之 $5'$ 羥基，單，二，及三磷酸鹽結尾能認出。產物以 5-單核甙酸占優勢，雖然也有 20% 的低核甙酸 (oligonucleotides) 集聚。此等活性可由圖 18-2 d 示明。

上述複製之機程已在 1974 年為 Kornberg 氏用單股環狀 DNA 及由大腸菌單離之多重酶實驗地說明了。雖然所有步驟尚未完全肯定，模式却已解決許多有關複製的問題。此模式的普遍性自然必須有待更深入的研究。

在脊椎動物中至少有五種不同的 DNA 聚合酶已有描述。即(a) DNA 聚合酶 α ，在細胞質中幾乎均可發現，也在核中存在，(b) DNA 聚合酶 β 幾乎全在核中發現的，(c) DNA 聚合酶 γ 僅含總細胞 DNA 聚合酶的 1 - 2%，在核及細胞質中均存在，(d) 線粒體的 DNA 聚合酶以及(e) 病毒誘導 DNA 聚合酶 (viral induced DNA polymerase) 乃由某些病毒感染的結果。此等酶類如何整體的進入脊椎動物細胞中之複製圖解現在尚未肯定。



(a) $3' \rightarrow 5'$ 外核酸水解酶活性



(b) $5' \rightarrow 3'$ 外核酸水解酶活性

圖18-2 d

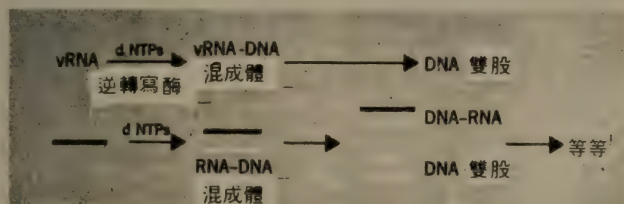
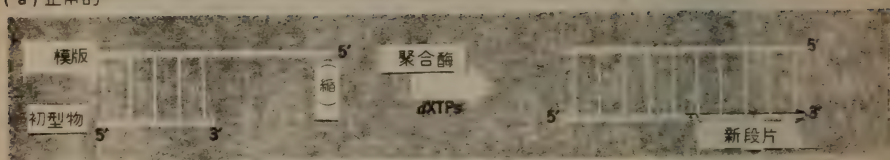
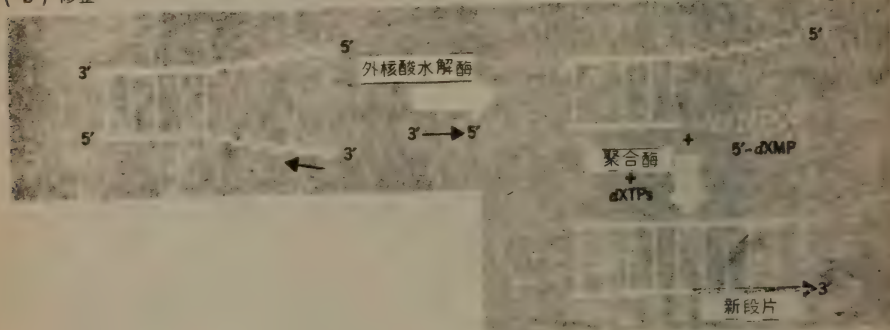


圖18-2e

(a) 正常的



(b) 修整



(c) 切斷平移

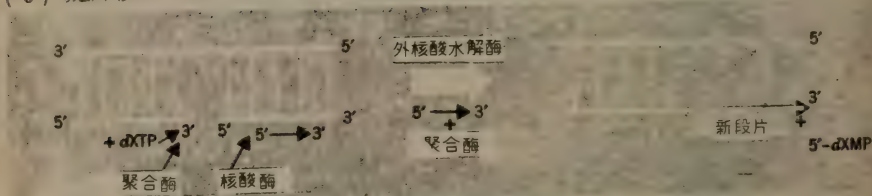


圖 18-4 大腸菌 DNA 聚合酶之三項功能的活性 (a) 聚合酶作用 (b) $3' \rightarrow 5'$ 核酸酶活性也和聚合酶活性一樣存在於一修整機程中，在此中不成對 $3'$ 段片被聚合酶之 $3' \rightarrow 5'$ 核酸酶活性消化回復為第一成對鹽基，且藉聚合酶為一連續的再合成。(c) 切斷平移涉及一非常有趣的合成且將切斷的 DNA 以當量速率降解，同時涉及聚合酶及 $5' \rightarrow 3'$ 核酸酶，結果不是淨的合成，却有缺陷區域的修復。

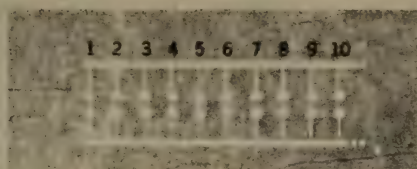
18-4 逆轉寫 (Reverse Transcription)

RNA 腫瘤病毒 (RNA tumor viruses) 有其病毒的 RNA 藉一聚合酶稱為逆轉寫酶 (reversed transcriptase) 的作用被轉寫進入 DNA 中。指揮 RNA 的 DNA 聚合酶 (DNA directed DNA polymerase) 之催化反應如上圖 18-2 e 。 vRNA 之 DNA 雙股轉寫產物併入細胞的 DNA 中，因此病毒資料得由一細胞世代轉載至另一世代。現在也有逆轉寫酶的資料從前想像僅限制在病毒粒子處，今知在正常細胞中也有發生的。

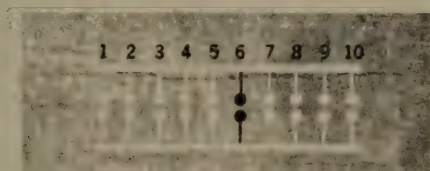
18-5 突變 (變種) (Mutation)

一種極重要的程序，突變被定義為一種基因之猝然的及穩定的變化，而

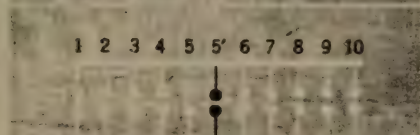
未馴型
(正常的)



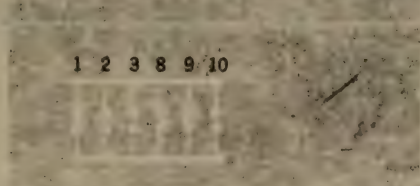
鹽基對變更
(易於可逆的)



插入簡單鹽基對
(可逆的)



刪除一部份
鹽基對
(不可逆的)

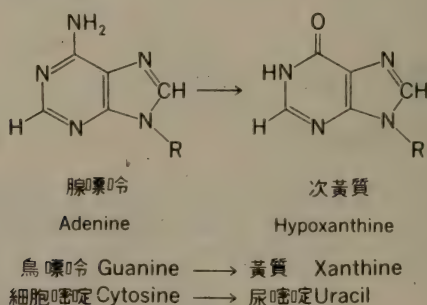


呈現若干不尋常的表型的特徵 (phenotypic character)，往往是一種生物化學的變異。在一突變中，可能損失若干特殊的生化功能。

一般言之，有三種突變，如上圖18-4 a所示，乃介入 DNA 分子中鹽基 A, T, G, C 順序內之缺陷或變化的結果。

18-5-1 物理的與化學的突變形成 (Physical and Chemical Mutagenesis) 在自然界中，突變可能被偶發事件所觸發，在 DNA 之鹽基不是物理的便是化學的起了變化，或被刪除，加成，或變更 DNA 鹽基以移動暗碼讀數的模框 (codon reading frame)。化學的突變形成實例如下：

(1) HNO_2 為脫氨劑：



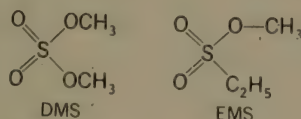
腺嘌呤轉變為次黃質結果與細胞嘧啶成不正確的對。細胞嘧啶變換為尿嘧啶則導致腺嘌呤對。而轉變鳥嘌呤為黃質乃在細胞嘧啶對中為正常的。

(2) 羥胺 (Hydroxylamine) 是一種非常有力的致變物 (mutagen) 但僅用於孤立系統，因一細胞之正常成分易於清掃此試劑。此試劑特別與細胞嘧啶反應：

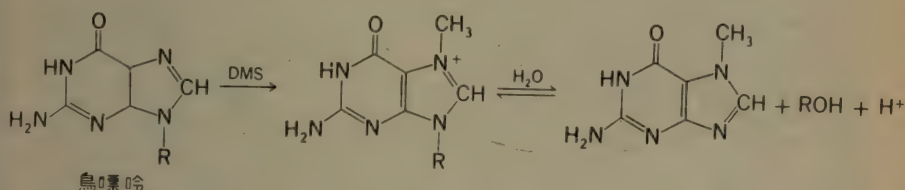


(3) 烷基化試劑 (Alkylating reagents) —— 硫酸二甲酯 (dimethyl

sulfate, (DMS)) 及乙基甲基硫酸酯 (ethyl methane sulfonate, (EMS)) 均對鳥嘌呤特別敏感：

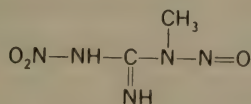


此反應使甲基化作用導致生成一個第四氮 (quaternary nitrogen) 能斷裂脫氧核糖貳 (deoxyriboside) 鍵鏈，且再釋出脫氧核糖貳。鹽基之失去可導致四種鹽基中之任何一種取代之，甚至斷裂 DNA 鏈：



此等化合物也和其他甲基化致變物， β -氯乙基胺 (β -chloroethylamine)，一種含氮芥子氣，是毒性非常大的。

(4) 甲基化試劑——極端致變的化合物，故使用時非常危險除非特別小心注意，——包括 N -甲基- N' -硝基- N -亞硝基胍 (N -methyl- N' -nitro- N -nitrosoguanidine)：

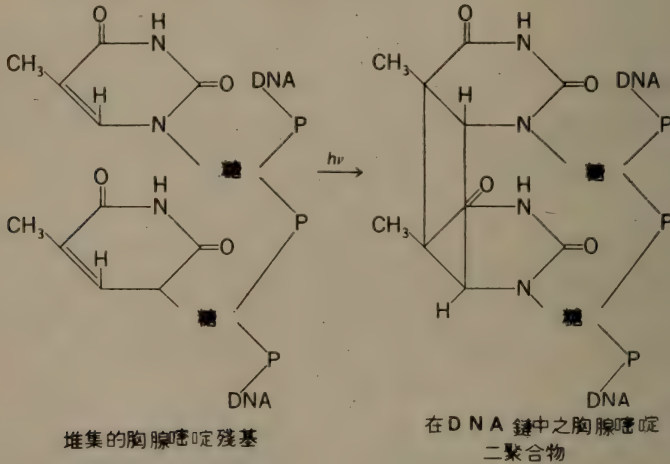


此試劑或可轉變為偶氮甲烷 (diazomethane)



這是一種極端有效的甲基化試劑。此化合物對於羧酸及氨基之甲基化普遍使用之，但務須特別小心！此試劑可甲基化核酸。

(5)以 X - 射線或紫外線行突變作用是突變形成中非常有效的。X - 射線或者與 DNA 反應是藉一種自由根的機程，乃在 DNA 鏈中裂開引起單股鏈之紫外線在 260 nm 處之強烈吸收，往往導致兩個相鄰胸腺嘧啶（thymine）的光化學二聚合作用成胸腺嘧啶 - 細胞嘧啶，或兩個細胞嘧啶的二聚物。胸腺嘧啶殘基尤其會起如下之反應：



18-6 修復機程（Repair Mechanisms）

所有細胞具有一種使 DNA 損傷的機構能被消除，且 DNA 之原來形狀的雙螺旋得以保存。X - 射線及 uv 射線發生傷害細胞 DNA。X 射線使 DNA 裂開或斷裂及 uv 射線使胸腺嘧啶行二聚合作用（圖 18-5）。此等變更更在 DNA 結構中能被現在陳述的機程迅即修復。

因大腸菌突變生物在 DNA 聚合酶 I 的缺陷增強了對紫外線及 x - 射線的敏感性，正確的結論是此聚合酶直接與修復機程有關。致受 uv 線傷害後，DNA 股在胸腺嘧啶二聚合物的 5' 側被內核酶（endonuclease）作用有了裂縫（見圖 18-5）。含有胸腺嘧啶二聚合物的低核貳酸（Oligonucleotides）被 5' → 3' 外核酸水解酶所移除，DNA 聚合酶 I 活性，及產生之裂縫以 DNA 聚合酶 I 之合成作用將相補的股做為模版填充之。最後的裂縫用前在

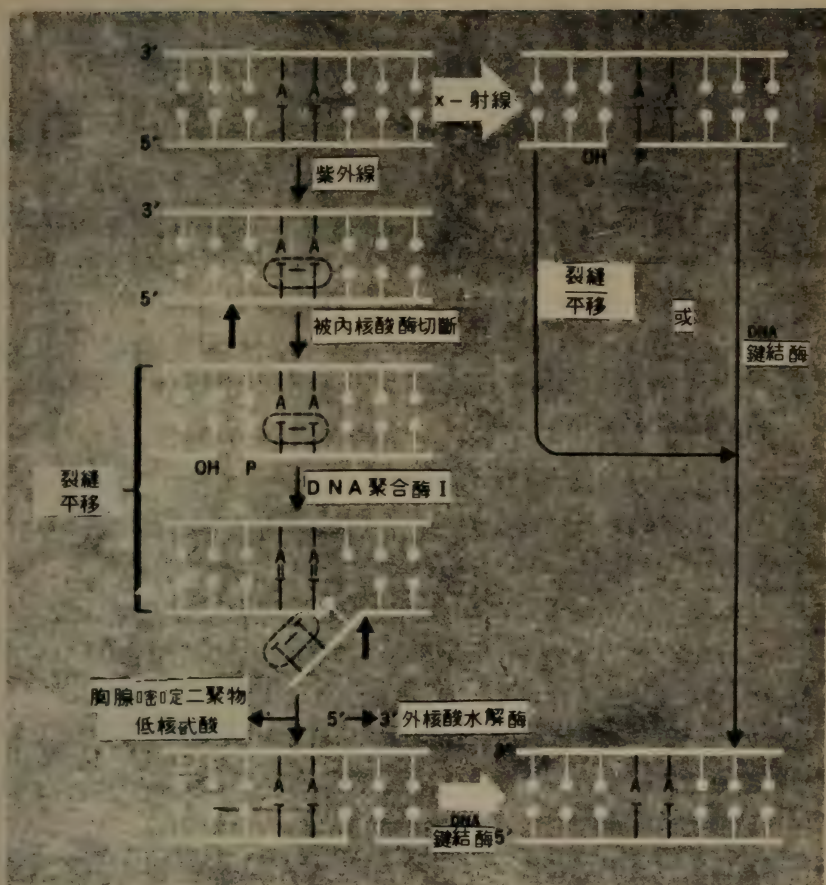


圖18-5 DNA 之修復機程。

複製作用中相同的機程正確地封閉之，所用之酶稱為 DNA 鏈結酶（DNA ligase）。X 射線的傷害易於使用 DNA 聚合酶 I 移去受傷害之股再在裂縫中填補之，然後以 DNA 鏈結酶熔合此裂縫乃重行修復。

在人類中 DNA 修復也遭遇一非常類似的內核酶切斷程序。外核酶水解酶移去受傷害的股，聚合酶封閉裂縫，且以鏈結酶作用熔合之。此等結論乃由研究稀少的遺傳疾病“着色性乾皮病”（Xeroderma pigmentosum）所得之結果。病家得此疾病對日光不尋常的敏感，結果皮膚嚴重反應也會腫

瘍生瘡。當患者之皮膚成纖維細胞 (fibroblasts) (組織養殖細胞) 用 uv-光照射, 胸腺嘧啶之聚合物迅即形成而且不再修復, 但若此等成纖維細胞首先用 x 照射然後用 uv 光形成二聚合物, DNA 乃迅即發生修復作用。顯然 x-射線能使鏈斷裂, 然後內生的外酸酶, 聚合酶, 以及鏈結酶活化的修復此損傷。故此等實驗明白地證明(1)對此少見的疾病分子的侵蝕是對於切斷缺少一內核酸酶, 此物不能使修復機程貫徹到底及(2) DNA 修復證明在細菌中與在人體中有本質上相同的機程。

18-7 RNA 轉寫的生物合成 (Biosynthesis of RNA Transcription)

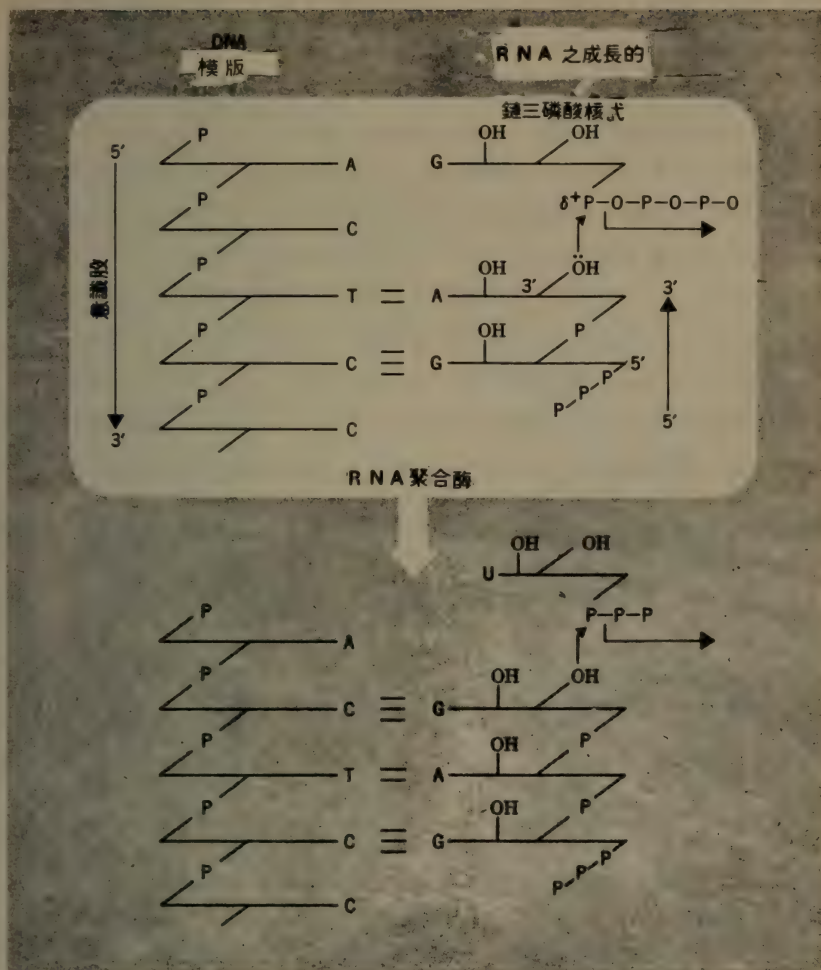
在細胞器如線粒體及葉綠體中, RNA 之生物合成除外, 在真核的細胞中有關 DNA 之 RNA 生物合成 (轉寫) 的部位是核 (nucleus)。而核仁 (nucleolus) 對於核酸體的 RNA 生物合成含有酶類及基因 (genes), 對傳遞者 (messenger) 及移轉者 (transfer) RNA 之合成負責的酶類均局限於核質 (nucleoplasm) 中 (見第 9-4 節有更詳盡的資料)。在准核的組織中 RNA 聚合酶在細胞質中存在。

因大腸菌 RNA 聚合酶已廣泛的試驗, 可較為詳盡的描述其結構及性質。由大腸菌而來的聚合酶也和其他有機體一樣催化 RNA 之淨合成所用的鹽基順序與做為模版的 DNA 股相補如圖 18-6 所示。

在准核的有機體中所有型式的 RNA 合成或者以一相當複雜的聚合酶的

表18-1 大腸菌RNA聚合酶之成分

次單位	分子量	數目	功能
β'	165,000	1	DNA 束縛
β	155,000	1	起始作用及 催化部位
σ	95,000	1	起始作用
α	39,000	2	未知
ω	9,000	1	未知
ρ	200,000		終結作用因素

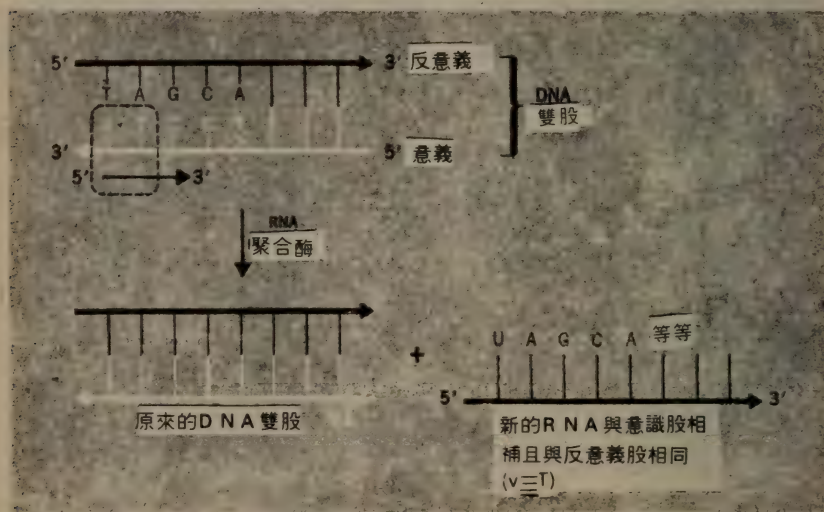


■18-6 三磷酸核武加在RNA成長的鏈上的機程與DNA模版的關係(意義股)(Sense Strand)反意義股(Antisense Strand)為此圖簡化計未列入。

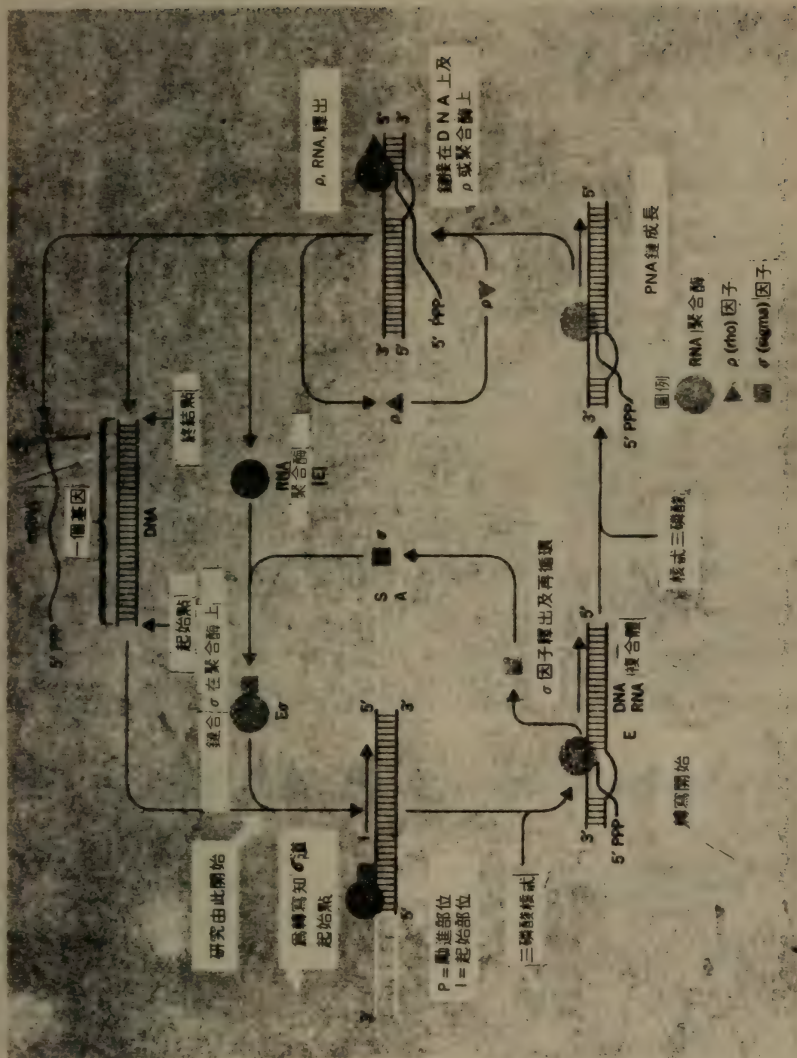
單一型式為中間體。大腸菌聚合酶之精製已揭示此酶由五種分別的次單位依比例組成，如表 18-1 所示。雖然所有次單位之功能尚未完全瞭解，顯然 β' 次單位將 RNA 聚合酶與 DNA 模版束合，而 β 次單位為一個催化的部位，

且束縛 rifampicin 這種抗生素，在體內及體外抑制 RNA 合成的起始作用。因素 σ 對於 RNA 合成的起始是需要的，發生在 DNA 模版的特殊部位上。沒有 σ 蛋白質，酶 ($\alpha_2\beta\beta'$) 稱為內生區聚合酶 (core polymerase)。與 σ 因子在一起則稱為完全酶 (holoenzyme) ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$)。

在“體內”僅有DNA之一股被“拷貝”(即複製)。這必須如此做，因為每兩個DNA股用做一RNA模版，相補順序的兩個RNA產物應被轉寫，應對兩個不同的蛋白質有暗碼！因僅有一個DNA股功能為一模版，而另一股並沒有模版的功能。對於DNA之一股複製則稱為“不對稱轉寫”(asymmetric transcription)，而複製兩條模版股時稱為“對稱的轉寫”(symmetrical transcription)。內生區酶將轉寫一DNA對稱模版；即DNA之兩股能做為模版。但轉寫反應緩慢且非特徵性的。用 σ 因子，完全酶不對稱的轉寫DNA，在特殊的發動基因部位 (promotor sites) 上起始發生RNA鏈。



18-7-1 (a) 與DNA模版聯結 (Association with DNA Template) 與DNA聚合酶類成尖銳的對比，DNA聚合酶需要一個模版初型物與聚合酶相互作用，而所有RNA聚合酶只需要一個雙股模版而不需初型物。用DNA聚合酶，一俟複製作用在模版初型物部位開始了，聚合作用乃繼續進行至DNA模版之末端；用RNA聚合酶，轉寫在DNA模版中特殊的發動基因部位上開始，且在一確定的基因的順序之末端終結之。或者RNA聚合酶與DNA重複



的聯結及分解直到發現一發動基因部位；發動基因部位必須有鹽基的特殊順序，此事可由完全RNA聚合酶之適當束縛而得知。在發動基因部位上束縛之程序中，藉雙股之局部熔合約有6至10個鹽基對轉變為一開敞的錯合體，由此使聚合酶選擇適當的DNA股為模版。在發動基因部位上束合的一種基本成分是 σ 因子（見圖18-7）此 σ 因子或者涉及雙股DNA的開敞鏈上，在其發動基因部位或其直接區域上。沒有 σ 因子，內生區聚合酶將無區別的判讀DNA股，有 σ 因子，則僅意識股會知道且正確的判讀之。

18-7-2 (b) 起始作用及延長作用 (Initiation and Elongation) 因許多RNA之5'末端不是有pppA便是pppG，不是ATP便是GTP或起始的鏈結酶類在發動基因部位上，且變為起始的5'末端的核甙酸殘基。此即在rifampicin可封閉的發動基因部位上，不是在ATP便是在GTP鏈結的起始階段上。在三磷酸核甙環境下開啓或熔解錯合體，現在開始在鄰近發動基因部位的起始部位轉寫了。一俟轉寫開始了， σ 因子乃離解，且內生區聚合酶完成此轉寫工作。RNA合成率彷彿被起始率所控制，而不受延長率所控制。立即聚合酶由起始部位移去繼續且完成轉寫。第二個聚合酶分子能束合在相同的發動基因部位上，然後再行至開敞的起始部位，開始第二個轉寫，餘類推。

18-7-3 (c) 終結作用 (Termination) 在一基因末端，鹽基之順序必須通知使轉寫完成。釋放出因子 (release factor) (ρ) (ρ)，是一種低聚合的蛋白質，分子量200,000設想與RNA聚合酶接合封閉進一步的轉寫，且釋出RNA產物。

18-7-4 在真核生物中之轉寫 (Transcription in Eucaryotes) 在真核細胞中，核的轉寫是一種十分複雜的程序。核的DNA質量非常龐大，且含有極為複雜的核甙酸順序。不像細菌系統具有一單純的有關DNA之RNA聚合酶 (DNA-dependent RNA polymerase) 品種，真核的細胞至少含有三種不同核的RNA聚合酶。RNA聚合酶I與核仁結合需要 Mn^{2+} 或 Mg^{2+} ，分子量為500,000-700,000，顯示是一種低聚合物的分子。它或者對核酸體的RNA合成負責。RNA聚合酶II，及III均在核質中存在。酶II已能純製需要 Mn^{2+} ，分子量約700,000，而且不像酶I對於由一毒蕈 (toadstool) 來的雙環肽毒素 (bicyclic peptide toxin)。 α -鵝膏蕈 (α -amanitin) 具高度敏感性。它也是一種低聚合物且對mRNA合成負責。酶III顯示與tRNA及5S RNA合成有關。聚合酶IV是在內線粒體模中存在的，且與線粒體的DNA之不對稱

轉寫有關。產物彷彿與線粒體的核酸體結合。最後在含有葉綠體植物中，一種有關DNA之RNA葉綠體聚成酶也具有特徵性。所有此等聚合物具類似 α 的起始因子與之結合，雖然高純製的大腸菌 σ 因子在與真核的RNA聚合酶交互反應中是完全無活性。終結DNA順序尚未十分瞭解。

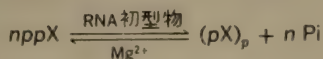
18-8 修正 (Modification)

雖然在體外情況下用大腸菌DNA為模版被快速成長的大腸菌細胞合成的RNA 40 %以上是核酸體的RNA，而被完全酶類 (holoenzymes) 合成的RNA只有0.2 %以下是rRNA。近來，有一種新的轉寫因子(ψ)，(ψ)，是由大腸菌的細胞膠體 (Cytosol) 加完全酶而得的一種蛋白質，結果使rRNA合成有百倍的激增，即現在總RNA之30或40 % rRNA了。

最新合成的單股RNA現在能做一些修正。在准核細胞中修正性酶或者在細胞質中存在。為了轉變為核酸體的，傳遞者，及移傳者RNA而縮短RNA的長度。tRNA及mRNA之鹽基的甲基化作用是用特殊的酶涉及將S-腺式甲硫基丁氨酸 (S-adenosyl-methionine) 在製備其最後結構中進一步修正核酸之纏繞股。此外，含硫鹽基，細菌及哺乳類 tRNA 之最小成分，均由特殊的硫酸酶 (thiolase) 所形成的，硫之給予者總是半胱氨酸。

18-9 聚核貳酸磷酸化酶 (Polynucleotide Phosphorylase)

雖然RNA聚合酶對於由DNA模版，轉寫RNA均屬正確的酶類，但尚有其他酶類稱為聚核貳酸磷酸化酶，催化可逆的反應，



均聚物 (homopolymers) 由 ADP, IDP, GDP, CDP, UDP 形成，分別產生聚-A，聚-I，聚-G，聚-C，及聚-U。用核貳二磷酸之混合物則形成無秩的協聚物 (random copolymers)。不需要模版核酸，雖然初型物存在可高度

此酶有歷史的重要性，因在細菌細胞首先觀察能由二磷酸核貳得一淨的 RNA 合成。此酶像有一種降解酶的主要功能，會迅速藉一磷酸酸解反應將 RNA 裂解為二磷酸核貳。

參 考 文 獻

1. J.D.Watson, *Molecular Biology of the Gene*. 2nd ed. New York: Benjamin, 1970.

在本書中有 RNA 及 DNA 合成之優良的摘要。

2. E.E.Snell, ed., *Annual Review of Biochemistry*, 42(1973); 43(1974); 44(1975). Palo Alto, Ca.: Annual Reviews.

進修的讀者可參考此書因在此領域中有許多最新的資料記載。

3. J.N.Davidson, *Biochemistry of Nucleic Acids*. 7th ed. London: Methuen, Wiley, 1972.

對於核酸化學及代謝作用有一般性記述，是一本優良書籍。

4. Arthur Kornberg, *DNA Synthesis*. Francisco: W.H. Freeman, 1974.

有 DNA 聚合酶 I 之學者所寫的一本優良的 DNA 生物合成方面的書籍。

習 題

1. 以如下各項比較如下各生物合成系統。

	模 版	初型物	模版- 初型物
糖原			
硬脂酸			
DNA			
RNA			

2. 如下各酶類均涉及核酸之代謝作用。請以簡短適當的答案填入表格中。
利用縮體字 DNA, RNA, XTP (四種三磷酸核糖貳之混合物), dXTP

(四種二磷酸脫氧核糖貳)，XDP (四種二磷酸核糖貳) P_i (無機磷酸鹽)，以及 $P \sim P$ (無機焦磷酸鹽)

	受 質	有機產物	無機產物 (如有則填寫)	模版之性質	初型物之性質
				(如有則填寫)	(如有則填寫)
DNA 聚合酶 I					
RNA 聚合酶 (轉寫酶)					
RNA-複製酶 (有關RNA之RNA 聚合酶)					
逆轉寫					
聚核式酸磷酸化酶					

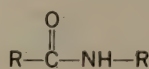
3. 在核酸生物合成領域中如下各生物化學家各位最為重要重要的貢獻是什麼？
- Meselson
 - Kornberg
 - Okazaki (岡崎氏)
4. 陳述在 RNA 合成中 σ 因子的任務。
5. DNA 之“意義”及“反意義”是什麼原義？

第十九章

蛋白質之生物合成

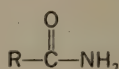
Biosynthesis of Proteins

目標 在准核的及真核的細胞中欲闡釋蛋白質合成的機程已歷經廿餘年，且在現代生物化學中可列為主要勝利之一了。肽鍵 (peptide bond) 之合成乃蛋白質合成中主要的化學事件，以後將見及在資料性核酸中對於精確移動特殊的順序程序亦與巧妙的機構有關。但，在細胞中許多合成的化合物中均有“類似肽的”鍵 (“peptidelike” bond)：



肽鍵

(一個N-取代的醯胺)



醯胺

(一個未取代的醯胺)

且其合成的討論是有助益的。尤有進者，許多二肽、三肽也和多肽一樣在細胞中合成並未涉及平移機程，此等物質包括麩醯胺，馬尿酸，以及穀胱甘肽以後也將檢討之。

生物化學家從歷史的觀點選擇此等化合物為研究蛋白質合成之簡單模式，立即顯出此等模式並未反映出蛋白質合成的複雜性，且不能用於做更深入的研究。

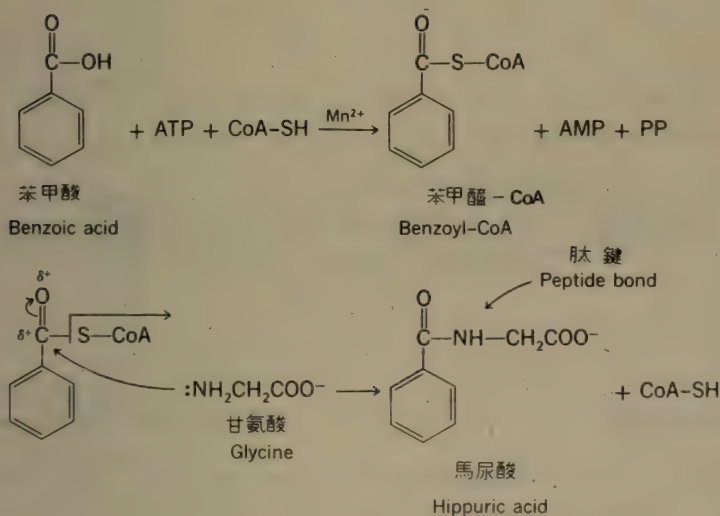
19-1 麩醯胺 (Glutamine)

麩醯胺是由麩醯胺有關ATP之合成酶 (glutamine synthetase) 所合成的，此酶在動植物以及細菌中 (第20-5.1項) 均有發現。第一步驟相信先形成一種 γ -麩醯基磷酸-酶錯合體。第二步驟中氨，一種優良的親核試劑，與此錯合體反應，且移去磷酸根原子團而成麩醯胺及無機磷酸；此機程在第17-6.1項中已示明。只有 γ -醯胺形成。異麩醯胺 (isoglutamine) 此化合物

與 α - 羧基醯胺化却從未產生過。此酶不僅高度特性化，因天門冬酸不能取代穀氨酸為受質，且亦為一極端複雜的蛋白質，被許多機程所調節，這將在第 20-5.1 項中討論。

19-2 馬尿酸(Hippuric acid)

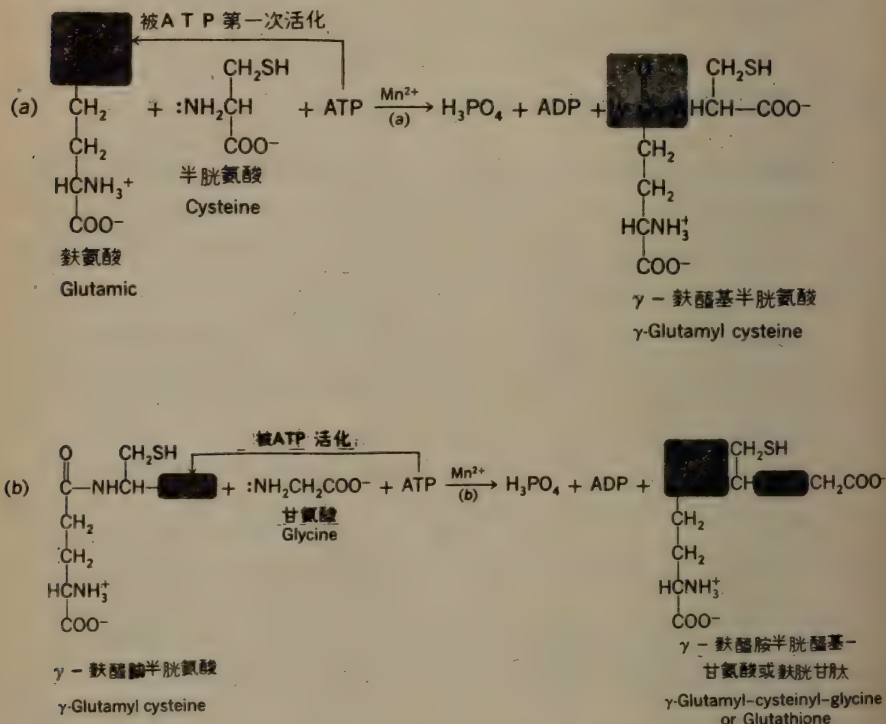
馬尿酸之酶的合成乃哺乳類動物中一種常見的尿產物，涉及之反應如下：



19-3 穀胱甘肽(Glutathione)

穀胱甘肽一種三肽在酵母，植物及動物組織中存在，需要兩種不同的酶系統來形成它的兩條肽鍵。第一種酶， γ - 穀醯基半胱氨酸有關 ATP 之合成酶(a) [γ -glutamyl cysteine synthetase (a)] 催化穀氨酸及半胱氨酸縮合以形成第一條肽鍵。然後第二種酶，穀胱甘肽有關 ATP 之合成酶(b) [glutathione synthetase (b)]。添加甘氨酸至前述合成之二肽來形成第二條肽鍵。在每一步驟中，羧基為 ATP 先行活化，以便穀醯胺合成之及早進行。半胱氨酸並非直接與穀氨酸之 γ - 羧基作用，因羧基之一 O^- 是一種弱的剩餘原子團，

若一磷酸基置於羧基碳上消耗ATP，然後用麩醯胺合成爲一優良的剩餘原子團。

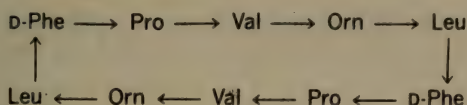


注意在馬尿酸合成中需要CoASH，且反應產物包括AMP及焦磷酸；在麩醯胺及麩胱甘肽合成中則ADP及無機磷酸爲反應之產物，而不需要CoASH。這強烈指示在馬尿酸中肽鍵是由一種不同於後二例中之機程所合成的。再者更要注意此等簡單步驟之次序是被所涉及之酶類特性所控制的。即謂，在麩胱甘肽合成中，倒轉的“甘氨酸-麩醯基-半胱氨酸”並未產生，因兩種酶系統有特殊控制添加的順序。故酶(a)只催化反應(a)及酶(b)只催化反應(b)。因反應順序爲麩氨酸用半胱氨酸，而並非麩氨酸用甘氨酸。

19-4 環狀多肽(Cyclic polypeptides)

抗生素環狀多肽之生物合成，也像蘇朧甘肽的生物合成均在完全缺乏多核貳酸中發生的，假定順序之確定乃酶之特性所使然。

茲有一例試討論，短桿菌肽 -S (gramicidin-S) 之生物合成。此物為一個十肽 (decapeptide) 其結構為：



萃取短桿狀菌 (bacillus brevis strains)，此菌含有兩個蛋白質部分，此外為 ATP 及 Mg^{2+} 可合成短桿菌肽 -S，且此適當之氨酸易於催化環狀多肽的合成。蛋白質 I 分子量為 280,000 及蛋白質 II 100,000。蛋白質 II 活化且消旋 D- 或 L- 苯基丙氨酸。也能與 D- 苯基丙氨酸經由一硫鍵聯結。蛋白質 I 活化其他四種氨酸，即脯氨酸；鳥氨酸，纈氨酸，以及白氨酸，經由之順序：



今已證實蛋白質 I 實為一聚合酶，至少由四種分離的特殊氨酸活化酶所組成，每種分子量約在 65,000 至 70,000。每種酶活化其特定的氨酸依據反應 19-1 及 19-2 進行。每種氨酸共價的以一硫酯鍵合於蛋白質上。第五種蛋白質為聚合酶之附近成分，且每個蛋白質含有 (分子量 17,000) 4' 磷酸澤特生 (phosphopantetheine) 官能原子團。

今有如下之景象顯露：L- 苯基丙氨酸首先被蛋白質 II 消旋為 D-苯基丙氨酸，然後活化 D- 苯基丙氨酸 - 硫醇酯 - 蛋白質 II 錯合體 (D-phenylalanylthioester-protein II complex)。此錯合體現在再與蛋白質 I 之 L-丙醯基-S-活化酶 (L-prolyl-S-activating enzyme) 成分化合成 -D-苯基丙氨酸 L- 丙醯-S- 錯合體 (D-phenylalanyl-L-prolyl-S- complex)：

雖然對於蛋白質合成較指揮核酸的核酸體的系統更為原始，但此系統嚴格地拘束在只是適當的立體異構氨基酸，所謂D-苯基丙氨酸，L-脯氨酸，L-纈氨酸，L-鳥氨酸，以及L-白氨酸才能使用，所有其他氨酸或不適當的光學異構物均摒棄不用。為造成肽鍵必須活化羧酸原子團則需要使用活性的氨基酰基硫酸-蛋白質。讀者應注意此環狀肽之合成與脂肪酸之合成是驚人的相似（第十三章）。

19-5 蛋白質合成之成份 (Components of protein synthesis)

在檢討蛋白質合成問題時，立即面對合成一非常複雜分子的巨大工作，因該分子含有數以百計的L-氨酸殘基，在每次產生此分子時是否均有確切的相同順序。換言之，合成之機程必須具有一種精密的暗碼系統，其自動的製作程序只將一特殊氨酸殘基嵌入蛋白質鏈中之一特定位置上的。暗碼系統，在決定精確的第一結構時，進而建立一所與蛋白質之第二及第三結構。此問題顯然在簡單的肽或醯胺之合成領域中不會存在的。

最有興趣的是由暗碼系統 (coding system) 之基因載體—DNA 而來的資料如何對於蛋白質生物合成用一精密方法的機程。在本章中前已討論DNA及RNA合成，而現在則試圖摘要陳述形成蛋白質的有秩序地程序。

由DNA來的基因資料對於新蛋白質有秩序地合成是在RNA中有製作如下的程序：

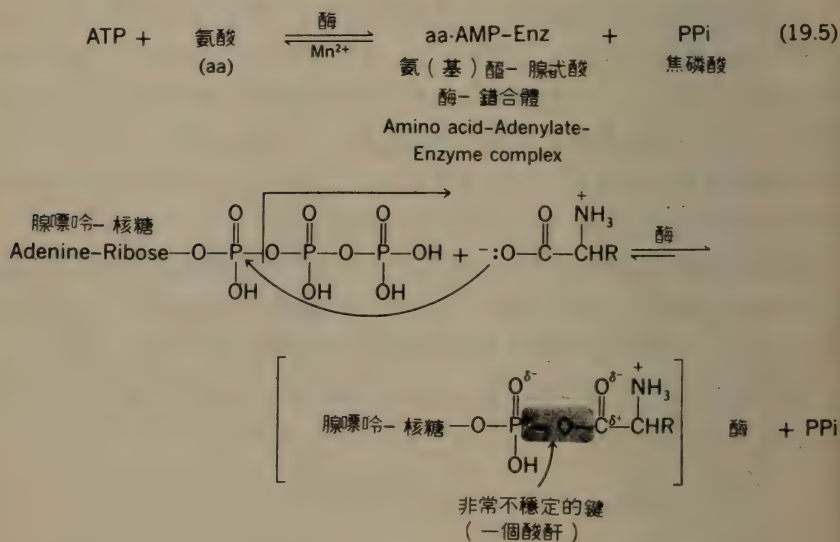


早已詳細討論轉寫的機程，即在DNA中之基因資料乃在一新的RNA鏈中用於排列鹽基的一種相補順序（第十八章）。在此程序中有三種關鍵性RNA被合成：(1)傳遞者RNA (messenger RNA) 乃載負由DNA而來的基因（遺傳因子）資料為新蛋白質排列有特殊順序的氨酸，(2)核酸體的RNA在核酸體中做為重要的結構成分，以及(3)移轉者RNA (transfer RNA)，載負活化的氨酸至mRNA模板上特殊認知的部位上。

故蛋白質合成的結構是由大量的成分所構成的，其中最重要的是mRNA，核酸體，為蛋白質合成的實際部位，還有氨基酰基tRNA以及一些酶類與輔

因子。在准核的及真核的有機體之細胞體中有完全機程在操作着且與細胞質內網狀組織密切相關。綫粒體及葉綠體有若干限制，但對於蛋白質合成則不如說是完全的組織。

19-5-1 氨酸的活化作用 (Activation of Amino acid) 在蛋白質結構中發現有廿種氨酸必須進行一種起始的活化步驟，這涉及氨酸之選擇及預為屏蔽。故，D-異構物及某些氨酸諸如鳥氨酸、瓜氨酸， β -氨基丙酸，以及二氨基庚二酸 (diamino pimelic acid) 均在細胞中用於其他目標，但在此階段中則均被摒棄。在蛋白質中正常發現的廿種氨酸中每一種均各具其特殊的活化酶系統稱為氨基醯基-tRNA 有關 ATP 之合成酶 (amino acyl-tRNA synthetase)。此階段涉及如下各反應：



氨基醯基腺甙酸類均非常活性的，但與母體酶結合則甚安定。大的不穩定性乃是與氨基上大的正電荷結合引起的。這些氨基與鄰近正的磷原子結果產生一強烈的靜電拒斥力，隨後乃起 P-O-C 鍵之不安定性。而此活化步驟稱為“氨酸-腺甙酸-酶-錯合體”在其中具有可觀的特殊架構，若干活化酶則對一些氨酸的活化能力有限。故，L-異白氨酸-tRNA 合成酶也能活化 L-纈氨酸，以及纈氨酸-tRNA 合成酶也能與蘇氨酸反應，如在反應 19-5 中示明藉焦磷酸-32P 交換之測定可知。但，此等酶並無嚴格的特定受質，僅分別知為

tRNA^{ileu}，及 tRNA^{val}。故在兩種階段上呈現特性：(a)活化步驟及(b)移轉至 tRNA 步驟，假定此合成酶蛋白質必須至少有兩個已知部位，其一是爲了特殊的氨基酸，及另一是爲了特殊的 tRNA。

大量氨基酸 tRNA 有關 ATP 合成酶已由大量組織中純製得之。此等分子量由 50,000 至 200,000 間變化，均可爲單節顯性的 monomeric 或低聚合的 (oligomeric) 蛋白質。

“氨基酸 - 腺甙酸鹽 - 酶錯合體”(amino acid-adenylate-enzyme complex) 之移轉至其特殊 tRNA 上之機程見圖 19-1 中所示：

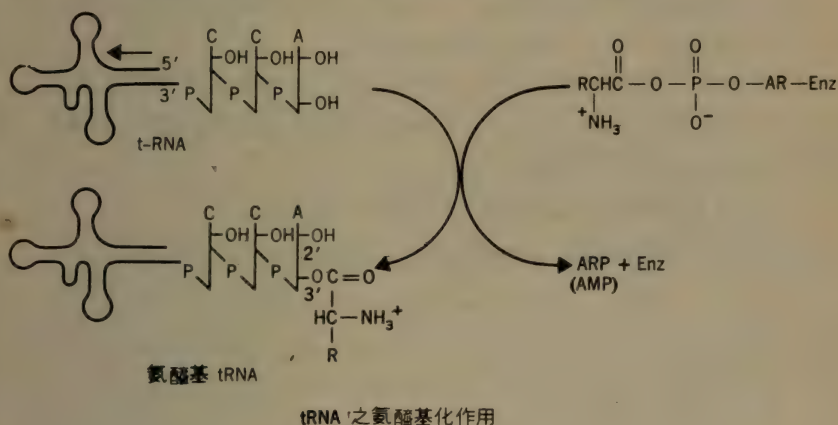


圖19-1 tRNA 之氨基酸化作用。

19-5-2 移轉者 RNA (Transfer RNA)

早已指陳，被活化的氨基酸

特殊接受體均爲特定的移轉者 RNA (tRNA)。每個細菌細胞中約含有 60 種不同的 tRNA 品種，而真核細胞可能有 100 至 200 種不同的 tRNA。誠然超過 20 個 tRNA 便具有其決定的鹽基順序。許多此等物質已經結晶純製了。已知 tRNA 品種之鏈長由 73 至 88 個核甙殘基，各有不同，約有 10-20 % 的鹽基已變更 (見第 5.2 節)。分子量有由 25,000 至 30,000 間之變動。命名 tRNA^{ala}_{yeast} 意即一個移轉 RNA 特別爲了氨基丙酸 (alanine) 且得自酵母 (yeast) 的。tRNA 之結構討論已在第 5-8-1 項中陳述。

85 % 以上的 tRNA 具有其 5' 終結爲鹽基鳥嘌呤 (guanine)，而其餘的其終結鹽基爲細胞嘧啶 (cytosine)。所有 tRNA 均能載負氨基酸具有其 3' 終

結順序細胞嘧啶 - 細胞嘧啶 - 腺嘌呤 (3'-terminal sequence cytosine - cytosine-adenine)。

現在的證據支持一結論：即謂氨醯基原子團乃以高度反應性酯鍵鏈接在 3' 末端腺甙醯基之 3' OH 核糖基部分上。

彷彿順-2-羥基連位 (vicinal cis-2-hydroxyl group) 之存在 (見圖 19-1) 與質子化的 α -氨基酸結合使氨醯基酯鍵接是非常有活性的。 α -氨基原子團之醯基化一個 N-醯基衍生物大為減弱此酯鍵接之反應性。

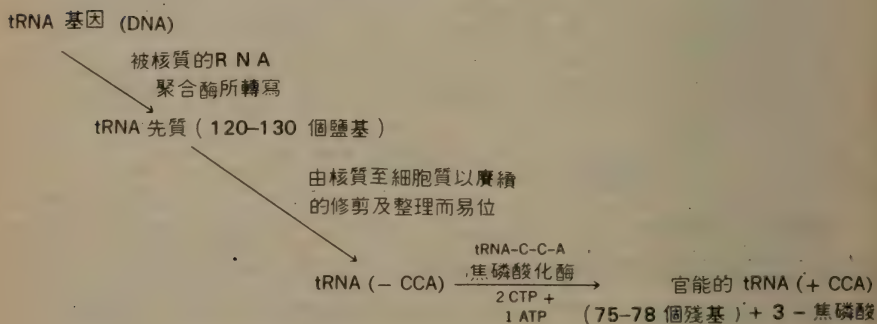
移轉者 RNA 有三種特殊功能：

(a) 欲接受適當的活化氨基酸；可以認知一特殊氨醯基 tRNA 有關 ATP 之合成酶 (amino acyl tRNA synthetase)。

(b) 在 mRNA 順序中能夠認出一特殊氨基酸與其本身之特殊“反密碼” (anticode) 之適當密碼 (code)，由此保證適當之氨基酸會安置在成長中之多肽鏈中一適宜順序中。(見圖 19-2)。

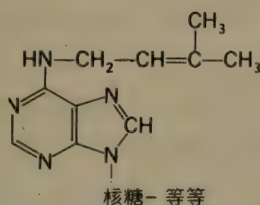
(c) 將成長的肽鏈鍵合在核酸體上參與平移程序。

現在 tRNA 品種之真核生物合成順序已能表示如下：

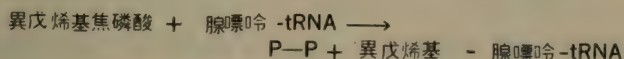


在真核的有機體中一個未整理的先質 tRNA 或者是藉局限在核質的 RNA 聚合酶由核 DNA 之一個特殊 tRNA 作用子 (cistron) 轉寫而成的。一俟細胞質易位後，如有鹽基的改變，對先質 tRNA 或者也是少數，但在細胞質中特殊的 tRNA 甲基酶 (tRNA methylase) 將甲基原子團由 S-腺核甙甲硫醯胺 (S-adenosyl-methionine) 移至適當的鹽基上，這些鹽基被碳、氮，以及氧等原子之烷化作用 (alkylation) 改變了而成為修正後的鹽基，乃具 tRNA

品種之特徵性。若干此等結構已在第 5-2 節中說明。在一特殊有機體內之 tRNA 其所含之修整的核貳範圍及此有機體進化情形之間好像有一種有趣的相互關係。故菌質的 tRNA (tRNA of mycoplasma), 這種已知之最小自由活有機體, 僅含小量改變的核貳。但, 大腸菌、酵母、小麥胚芽、鼠肝, 以及瘤細胞則在其 tRNA 品種中有增大數量的改變鹽基。哺乳類的 tRNA 約有 20 % 的鹽基是被變更的。有一種有趣的變更核貳含有異戊烯基腺貳 (iA) (isopentenyl adenosine, iA) :



異戊烯基腺貳本身屬於細胞酸 (cytokinin) 類, 均為有效的植物生長因子, 可促使細胞分裂、成長, 以及在植物中形成器官。雖然 iA 與此等此活性之關係尚未明瞭, 在腺嘌呤是反密碼子三重順序 (anticodon triplet sequence) 的第三個鹽基時, iA 總是在鹽基腺嘌呤鄰近處存在的。異戊烯基腺貳易為細胞質的酶, 異戊烯基焦磷酸: tRNA 異戊烯基移轉酶 (isopentenyl pyrophosphate: tRNA isopentenyl transferase) 所合成:



早已述明約有六十種不同的細菌性 tRNA 品種, 能分離出來且純製之。對於相同氨酸能有許多 tRNA 存在則稱為多重性 (multiplicity)。例如有第一型乃由基因暗碼之簡併 (degeneracy) 而成, 即對於六個絲氨酸暗碼子 (見基因暗碼, 表 19-1) 需要三種 tRNA^{ser} 品種。第二型在動植物細胞中, 涉及綫粒體的 tRNA, 以及在植物葉綠體中有葉綠體 tRNA。

第三型為一特效 tRNA 品種, 具高度特效性功能為細胞所使用。例如葛蘭姆正性准核的有機體可合成大量細胞壁成分稱為肽糖 (peptidoglycan) (見有關結構之第 2-7-2 項及有關功能之 9-2 節)。肽與肽之間的橋在若干有

機體中聯接肽糖間分開之股，是一種五甘氨酸肽（pentaglycyl peptide）。白色表皮葡萄球菌（*staphylococcus epidermidis*）是一種典型的有機體，具有一種獨一無二的 tRNA^{gly}，含量相當大，約有 85 個殘基，但只有一種變型的核式，稱為 4-硫尿核式（4-thionridine）。雖然由此有機體會分離出三種附加的同等接受者 tRNA^{gly} 品種（additional isoaccepting tRNA^{gly} species），其與特效的 tRNA^{gly} 載負甘氨酸且能參與肽-肽間橋樑的形成，此特效 tRNA^{gly} 並不參與蛋白質合成，且並不具有一個甘氨酸反暗碼子，而其他三個 tRNA 品種易於參與蛋白質之合成。可以推想有機體藉高度特效 tRNA 之合成性能依據該 tRNA 品種對所有重要肽橋之形成乃如此不可缺少，使一完全的肽糖的合成與細胞之蛋白質合成機構無法相提併論了。

總之，移轉者 RNA 做為一適應者在氨基酸的適當位置上依據 mRNA 之核式酸順序，移轉者 RNA 必須在其結構中具有許多承認的部位，稱為 (a) 反密碼子部位（anticodon site），即三鹽基部位（three bases site）對 mRNA 中相補的三合體密碼（triplet code）的認取負責；(b) 有關 ATP 之合成酶部位（synthetase site），藉此特效的氨基醯基 tRNA 合成酶可認知，且以 tRNA 負載特效的氨基酸；(c) 氨基酸接觸部位（amino acid attachment site），其在所有 tRNA 中為 3' 終結 - CCA 核式順序；以及 (d) 核糖體認知部位（ribosome recognition site）。

19-6 基因密碼（The Genetic Code）

在數章中已討論密碼子（codons）反密碼子（anticodons）以及密碼（codes）。現在要適當的對各項作更精確的定義。

直至最近，現在生物學中最引人興趣的費解處便是在一個不明確的方式中只用四種核式酸殘基如何對廿種氨基酸配成密碼。顯然，一個確定的核式酸順序能做一種密碼。此順序有多長呢？若每個順序是兩個殘基的長度，則只有 4^2 或 16 種不同的二元組合是可採用的，能編成密碼的氨基酸不會多於廿種。若每種順序是三個殘基長度，則總數為 4^3 或 64 種不同的組合可資採用，是更適合的。此費解之處的解答是現代生物化學中最有趣味的章節之一。

以後將見及，在 mRNA 上鹽基之順序指引蛋白質氨基酸順序的精確合成。密碼子（codon），對一所與氨基酸乃製密碼之單位，由一組三個相鄰核式酸

表19-1 基因(遺傳)的密碼

第一位置 (5'末端)	第二位置				第三位置 (3'末端)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term ^a	Term	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	GIN	Arg	A
	Leu	Pro	GIN	Arg	G
A	Ile	Thr	AsN	Ser	U
	Ile	Thr	AsN	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met ^a (起始)	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

^a鏈一終結

殘基在 mRNA 上組成；其次的在 mRNA 上的三個核甙酸殘基適於其次的氨酸成為密碼等等。此等結論之證據是基於不可忽視的數據。在 1961 年，M. Nirenberg 氏做過一個古典的實驗。他使用由大腸菌遠心分離的上層溶液 (supernatant solution) 所得之系統及以 tRNA 補充的核酸體。他在此系統上添加放射性氨酸及聚尿甙酸 (polynridylic acid) 聚-U (poly-U) 之混合物，這是由聚核甙酸磷酸化酶作用於 UDP 上而製備的。由此氨酸之複合混合物，只有一種氨酸介入一種新合成蛋白質的酸性不溶解部分，這種氨酸便是苯基氨基丙酸 (phenylalanine)。證實生成物是“聚苯基氨基丙酸 (poly phenylalanine)”。Nirenberg 氏更正的結論是合成的聚-U 事實上是用做 mRNA，且提供資料專為只有苯基氨基丙酸-tRNA 單位應與核酸體的核聚-U 錯合體 (nucleoprotein poly-U-complex) 結合的。如果添加各種不同數量之 CDP, ADP, 或 GDP 與 UDP 至聚核甙酸磷酸化酶便可製取漫無

規則的混合聚核貳酸類 (randomly mixed polynucleotides) 了。當不同鹽基成分之合成 RNA 聚合物中添加了前述的試驗系統，則不同氨基酸介入蛋白質中。對每種氨基酸為三核貳酸 - 鹽基之最小密碼比率已確定；雖然，在每個三合體密碼 (triplet code) 中鹽基之精確順序尚未知曉。

1964 年，Nirenberg 氏發明一簡單方法，由此用已知順序的三核貳酸來譯解密碼 (decipher the code)。已知順序的三核貳酸與一標識的氨基醯基 - tRNA 及核酸體相混合。經過一時期的潛孵，懸浮質由一細孔濾器過濾。氨基醯基 - tRNA 與核酸體的束合情形端視一特效的三核貳酸之存在而定。若無束合發生，氨基醯基 - tRNA 便穿過此濾器，但，若有束合存在，此氨基醯基 - tRNA 核酸體的錯合體應留存於濾器中，而且能很容易的計數其放射性。事實上，合成的三核貳酸用做模式密碼子 (model codons)。用此三核貳酸束合試驗，Nirenberg 氏已用 20 種單數氨基醯基 - tRNA 的 64 種三核貳酸做過實驗。

在此同一時期 H. G. Khorana 氏，用有機合成的技術也像酶的技術一樣，用完全確定的重複順序製取合成的聚核糖核貳酸。故重複的 CUC UCU CUC……當添加在蛋白質 - 合成系統及放射性氨基酸上時，產生的一種聚肽便只含有交互替換的白氨酸及絲氨酸殘基。

由此等及其他實驗，生物化學家終於能夠指定特效氨基酸由 64 種可能的密碼子指定 61 種，其餘的三種則已計劃做為終結性密碼子 (terminator codons)。此等結果摘錄在表 19-1 中的均明確規定了遺傳密碼 (genetic code)。

今將簡短的列出若干有關密碼的一般通則：

(一) 密碼是普通的；即所有准核的及真核的有機體均用相同的密碼子來指定每個氨基酸。

(二) 密碼是退化的；即不止一種核貳酸的三合式排列來指定相同的氨基酸。故 UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, 以及 CUG 均對白氨酸為密碼子。立即注意到前兩組的鹽基均屬特定的，而第三個鹽基則是可變動的。這假定在第三鹽基中因突變的一種變化能仍依一所與氨基酸之移動至蛋白質中。簡併常常只在密碼子中與第三鹽基有關。例如，對於苯基氨基丙酸之密碼子為 UUU 或 UUC。第三鹽基單純的需要一嘮啶。對於白氨酸兩個密碼子也開始用 UU，在此場合必須有其第三鹽基為一嘮呤所占據。密碼子之一般指定的樣式可設想在密

碼子的 3' 末端上的核武酸可能被兩個鹽基中之任何一個不是一個嘌呤，便是一個嘧啶所占據。填在這第三位置上的鹽基稱為“游移鹽基”（wobble base）。故，幾乎所有密碼子能以 xy^A 或 xy^U 表示之。除普通的四種鹽基 A, U, G, 及 C 外，第五種鹽基 I（肌武 inosine）往往發現形成反密碼子的一部分；I 從未在密碼子系統中存在過。但，它以一鹽基而在 tRNA 之三合體反密碼子中存在，且不變化的補足密碼子的第三個或可變的鹽基。故密碼子 CUU 可由反密碼子 AAG，或 IAG（讀出由 5' - 3' 的方向）讀出。I 之游移性其理由是 I 能與 U, A, 或 C 形為氫鍵聯（圖 19-2）。

- (三) 密碼是非重疊的（nonoverlapping）；即相鄰密碼子不重疊。
- (四) 密碼是無逗點的（commaless）；即在密碼子間無特殊的號誌或逗點。

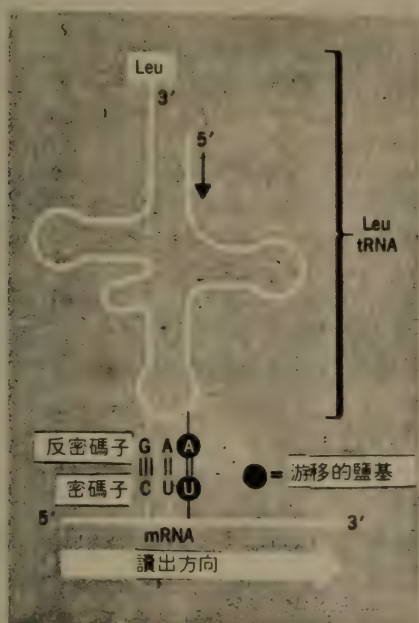


圖19-2 氨基酸tRNA與mRNA之聯接。

(五) 64種可能的三合體密碼子中有61種用於組成密碼氨基酸三種，UAA, UAG, 以及UGA當初已稱為無意義 (nonsense) 密碼子，但現在已知其對於一條肽鏈的COOH-末端為特殊的鏈終結作用的密碼子。

(六) 密碼子AUG十分有趣，因它僅對於甲硫醯丁氨酸 (methionine) 為密碼子，無視其為 fMET-tRNA^{met} 還是 MET-tRNA^{met}，均用做甲硫醯丁氨基載體。可做為極端重要的起始者密碼子 (initiator codon)，也一樣為內部的甲硫醯丁氨基之內插物。或者，起始者因子 (initiator factors) IF1, IF2, 以及 IF3 或 mRNA 之第二結構區別為 AUG 之正確使用。起始者及終結者密碼子 (terminator codon) 的任務在圖 19-3 中示明：

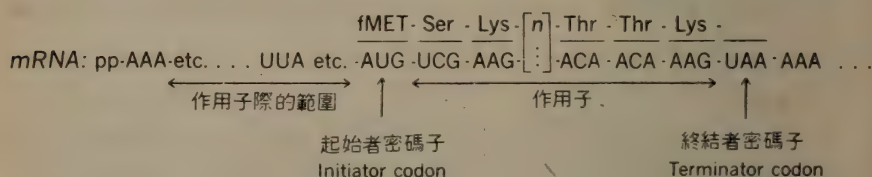


圖19-3 AUG信號既不在5'末端也不直接依隨-內部的終結者信號(UAG或UAA UGA)有些範圍沿一聚作用子的mRNA (Polycistronic mRNA) 是否被移動的，這種作用子際的範圍 (intercistronic regions) 的動作尚不清楚。

(七) 一般言之，有碳氫殘基的氨基酸具有U或C為第二鹽基；而具支鏈甲基的有U為第二鹽基。鹽基的及酸的氨基酸有A或G為第二鹽基。

19-7 傳遞者 RNA (Messenger RNA)

正如有許多機會陳述 (第 5-8-3 項) 平移程序之一關鍵成分 mRNA，只由一細胞的總 RNA 中之小百分數組成，它載負由 DNA 來的遺傳的信息 (message) 至蛋白質合成的部位上，即核酸體上，且稱之謂傳遞者 RNA (又有譯做“信使 RNA”)。傳遞者 RNA 是代謝的不安定物質，在准核的細胞中具高度轉變率，但在真核的細胞內却相當安定。乃由有關 DNA 之 RNA 聚合酶 (DNA-dependent RNA polymerase) 合成的 (第 18-7 節)。

傳遞者 RNA 在鏈的長度上有很大變化，故分子量亦然。這種很大的變化

可能與蛋白質鏈之長度不均勻性有關。因少數蛋白質含有不到 100 個氨基酸，對此等蛋白質 mRNA 密碼必須至少有 100×3 或 300 個核甙酸殘基。在大腸菌中 mRNA 平均尺寸為 900-1500 個核甙酸單位，且密碼不止一個聚肽鏈，即一個聚作用子的 mRNA (polycistronic mRNA)。這種 mRNA 之不穩定性是細菌系統的特徵，具一“半生命” (half-life) 由幾秒至約兩分鐘。但哺乳類系統 mRNA 分子相當穩定具一“半生命”範圍由幾小時至 24+ 小時。這可解釋細菌必須在調整其不斷變化的環境具有較大伸縮性，必須能夠合成不同的酶類以克服其周圍環境，因此需要短生命期的 mRNA。

在真核的細胞中有一種先質，非均態核的 RNA (HnRNA) (heterogeneous nuclear RNA, HnRNA)，乃首先在核質 (nucleoplasm) 中藉有關 DNA 之 RNA 聚合酶所合成，然後被一核的核酸酶 (nuclease) 降解為 mRNA，即然後轉移區域至細胞體上，在該處便能與核酸體的系統相聯結。大多數真核的 mRNA 為單作用子的 (monocistronic) 即僅對一多肽組成密碼。以後在本章中更會讀到 mRNA 之功能，而且在第二十章中會討論代謝的調節作用。




19-8 核酸體 (Ribosomes)

早在 1950 年，開始蒐集設想核酸體對於蛋白質合成為其部位的證據。例如，Zamecnik 氏注射放射性氨基酸進入鼠體中，然後在短時間內，將其肝臟均漿化，且依不同之遠心分離程度，將此均漿分成核 (nuclei)，綫粒體 (mitochondria)，微粒體 (microsomes)，以及上層液蛋白質。微粒體部分有最高之特效活性。當此微粒體以清潔劑處理由囊泡基質 (vesicular matrix) 中分離出核酸體，再試驗其放射性，此核酸體含有七倍以上的較存留的微粒體更多的每毫克蛋白質放射性，於是顯然核酸體在若干本領的運用上是對蛋白質合成為一所在地。首先，生物化學家得一結論謂：因核酸體之 RNA 高含量故能美妙地用做模版 RNA 之載體。1956 年此觀念却因 tRNA 之發現而修正了。在 1957-58 年間 mRNA 之發現更進一步修正了早期必需的觀點。核酸體究竟扮演何種角色？首先討論此等粒子之若干詳細的化學情形。

核酸體是大的核糖核阮微粒 (ribonucleoprotein particle) 在其上發生實際的平移程序。在真核細胞中以自由形式存在，乃單體 (指染色體, mono-

some)，或與 mRNA 結合成多體 (polysome)。一平均細菌細胞約含 10^4 個核酸體。在真核的細胞中存在的與在准核細胞中發現的類似，且亦與粗糙的細胞質網膜系 (rough endoplasmic reticulum) 的膜結合 (第 9-4 節) 在此等細胞中約有 $10^6 - 10^7$ 核酸體。綫粒體及葉綠體也具有此等粒子。表 19-2 摘錄准核的核酸體，植物細胞質的以及細胞質的核酸體之物理的性質。此外的資料則在第 5-8-2 及 9-4-1 項中。

表 19-2 核酸體的沈降值

核酸體	次單位	rRNA (mol wt)	各個蛋白質數
准核的			
線細菌，放射菌類 (actinomycetes)			
藍綠藻，由真核質來的綫粒體			
70S		30S 16S (550,000)	21
		50S 5S (40,000)	ca. 33
		23S (1,100,000)	
真核的			
植物界 ^a			
~80S		40S 16-18S (~700,000)	34
		60S 5S (40,000)	ca. 50
		25S (~1,300,000)	
動物界 ^a			
~80S		40S 18S (~700,000)	34
		60S 5S (40,000)	ca. 50
		28-29S (1,400,000-1,800,000)	

^a一般言之，細胞器核酸體 (綫粒體的或葉綠體的) 均在 70S 類屬中。

用高速遠心分離 ($100,000 \times g$ 若干小時) 法延長時間則組織之萃取物易於單離出來，所有核酸體由一較大次單位及集聚在 10 mM MgCl_2 濃度上而在 0.1 mM MgCl_2 又完全解離的一較小次單位所組成的。准核細胞之 30S 次單位含有 21 種各別的蛋白質，大多數為鹼性的，及一個 RNA 分子，即 16S 成分 (見表 19-2)。在真核細胞的 40S 次單位中有 34 種蛋白質及一個 RNA 分子，即 18S。較大的次單位稱為准核細胞的 50S，約含 33 種個各別蛋白質。

真核細胞的 60S 次單位約含 50 個蛋白質及兩個 RNA 分子，在植物中有 5S 及 25S，在動物細胞中有 5S 及 28-29S（表 19-2）。有證據設想所有蛋白質均具平移程序的功能，或結構。沒有蛋白質是共通的同時有大的及小次單位。

特效的核酸體蛋白質直接與 mRNA 及 tRNA 之鍵合有關。rRNA 顯示並不直接參與在此等鍵結部位上，但彷彿用做一結構的聚合物維繫衆多蛋白質粒在一緊密的組態中。

兩種核酸體的次單位具不同之鍵結性質。故，大腸菌 30S 次單位在沒有 50S 次單位時束合 mRNA，且 30S-mRNA 錯合體束合特別的 tRNA。50S 次單位在沒有 30S 次單位時並不與 mRNA 結合，但將不特別地束合 tRNA。每個 70S 核酸體對於 tRNA 分子含有兩個不同的束結部位。部位 A（氨醯基部位）乃有關進入的特殊的氨醯基 tRNA 部位，俾配合在 mRNA 的密碼子。部位 P（肽部位），束合在成長的聚肽醯 tRNA 上。肽醯基轉移酶（peptidyl transferase）是對肽鍵之形成負責的，局限在 50S 核酸體粒子上，或者鄰近 P 部位。50S 次單位也具有一部位此物在移轉部位過程中水解 GTP 爲 GDP。

尚應對於核酸體之生物合成略作介紹。在真核質中核酸體的 RNA 合成部位是核仁（nucleolus）（第 9-3 節），在核仁中，RNA 聚合酶由核 DNA 之 RNA 作用子範圍處轉寫一大的先質 rRNA。先質 rRNA 之沉降值爲 45S (4.1×10^6 mol wt)，且迅即分裂成兩個較小的 RNA，一個稱爲 32S 及另一個是 20S 的成分。32S 成分再改變而產生一個 28S rRNA，而 20S 成分裂爲 18S rRNA。其時，特殊的核酸體的蛋白質移轉部位至核仁，且變成與每個 rRNA 結合而成完全的 40S 及 60S 核酸體的次單位。在此點上，40S 單位轉變爲細胞質，在該處它變爲與 mRNA 聯接；暫短時間後，60S 次單位乃移轉至細胞質處，而與 40S-mRNA 錯合體結合成完全的 80S-mRNA 錯合體。5S RNA 可與兩個核酸體的次單位束合在一齊。由先質 rRNA 的殘餘碎片或者轉變回核貳酸，且再循環至核的機程中。在准核細胞中 16 及 23S 次單位 rRNA 之先質只比最終產物稍大一些，彷彿需要極小的調整或轉寫後修整之以完成正確的結構。

19-9 蛋白質合成 (Protein Synthesis)

由 DNA 經過 mRNA 將密碼化資料移入蛋白質之氨基酸順序中涉及 100 種以上不同巨分子之有秩序的相互反應。今將陳述反應高度複雜順序的現況報告，在其中尚涉及 tRNA, mRNA, 核酸體，以及許多隨附的酶類及蛋白質。因蛋白質合成之機程已在大腸菌萃取物中有深入的研究，今將利用此有機體做為陳述的模式，但在適當之處仍須介紹真核的系統。

在蛋白質合成中有四大步驟：(a)氨基酸之活化作用，(b)聚肽鏈合成之起始作用，(c)其延長作用，以及(d)終結作用。表 19-3 摘錄此等反應之重要成分。

表19-3 大腸菌蛋白質合成系統之重要成份

節，段數	步 驟	成 分
(19-5.1項)	活化作用	tRNA's ATP Mg ²⁺ L - 氨酸 氨醯基- tRNA 合成酶
(19-9.1項)	起始作用	30S 核酸體的單位 50S 核酸體的單位 mRNA 具起始劑密碼子 AUG IF1 (9400 mol wt), IF2 (80,000 mol wt), IF3 (21,000 mol wt) 起始劑 tRNA = fMET-tRNA _f 甲醯四氫葉酸 MET-tRNA _f 甲醯酶 GTP, Mg ²⁺
(19-9.2項)	延長作用	EFTs 因子 (19,000) EFTu 因子 (40,000) EFG 因子 (80,000) 氨醯基-tRNA's
(19-9.3項)	終結作用	終結劑密碼子 UAA, UAG, UGA R1 (44,000) 因子 R2 (47,000) 因子 S 因子 (40,000) TR 因子
(19-9.3項)	脫甲醯基甲硫 基丁氨醯作用	脫甲醯基酶 氨基肽酶

步驟(a)之若干詳情早已陳述了。步驟(b), (c)及(d)則在圖 19-4 至 19-7 中說明。讀者應參見表 19-3 及參考此等圖片來陳述蛋白質合成的程序。

19-9-1 起始作用 (Initiation) 在大腸菌系統中第一反應是在 IF 3 環境下將 mRNA 束合在 30S 次單位上產生一個 mRNA 30S-IF3 錯合體，其成分比為 1:1:1。IF1 及 IF2 再參與 fMET-tRNA 及 GTP 之束合在 30S-mRNA-IF3 錯合體上而形成 30S-mRNA-fMET-tRNA-GTP 之起始錯合體而放出 IF3。今 50S 核酸體的次單位進入其中；GTP 被水解為 GDP + Pi，而 IF1 及 IF2 二者均釋出。最後之產物為一個 70S 錯合體含有 fMET tRNA-mRNA 用 fMET-tRNA 占據 70S 核酸體之肽部位。此等事件之摘要在圖 19-4 中。

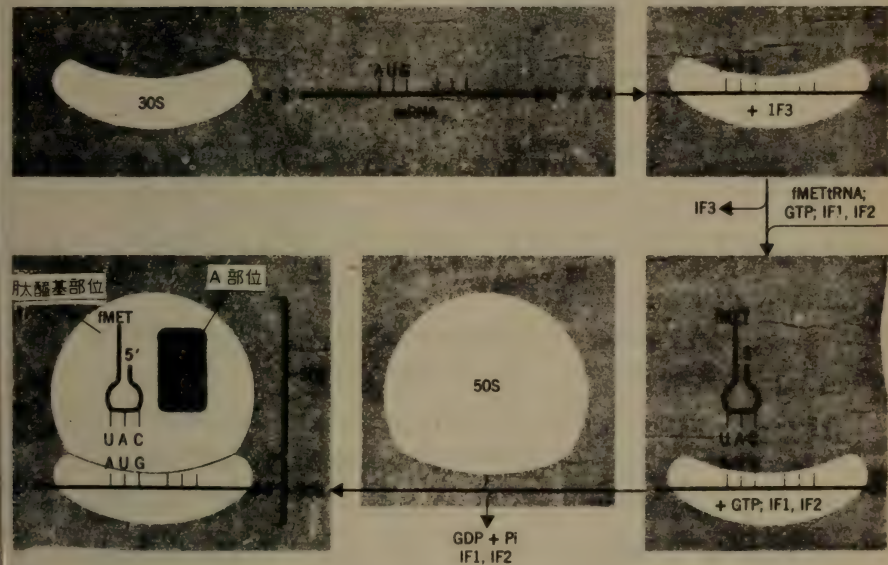
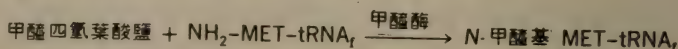
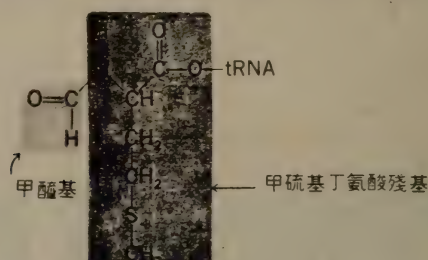


圖19-4 在大腸菌中70S 起始作用錯合體之步驟。

今將略加介紹 $fMET-tRNA_f$ 之任務。若干年以來已察見總大腸菌蛋白質之主要 NH_2 -末端氨酸為甲硫基丁氨酸。後者應注意甲硫基丁氨酸之添加及在大腸菌粗萃取物中特殊 N -甲硫基甲硫基丁氨酸之刺激蛋白質合成。最後發現在准核有機體中所有蛋白質之合成中起始氨酸為 N -甲硫基甲硫基丁氨酸，此物轉而與一特效的 $tRNA^{met}$ 結合，故此反應為：



為一非常重要的反應，其中甲硫基丁氨酸之 $\alpha-NH_2$ 原子團被甲硫基化：



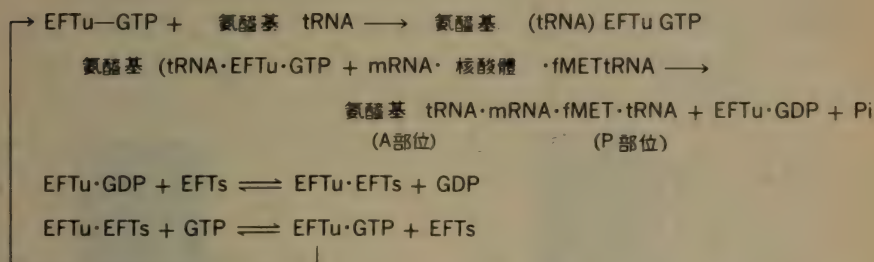
並非所有 $MET-tRNA$ 均甲硫基化的。第二種型式鹽基順序稍有變更， $MET-tRNA^{met}$ ，在起始作用步驟中是不活性的，且對於生成聚肽鍵中內部的甲硫基丁氨酸殘基為特效的甲硫基丁氨酸之載體。這是很有趣味的，在真核的有機體中，一個未封閉的 $MET-tRNA^{met}$ 可做為特效的起始劑 $tRNA$ 。

P 部位以 $fMET-tRNA_f$ 所占据，且 A 部位早已接受第一個氨醯基- $tRNA$ 這是因密碼子鄰近起始劑密碼子 AUG 而具特效的。

19-9-2 延長作用步驟 (Elongation Step) 此步驟涉及三個階段：(a) 被指向的密碼子於 70S 核酸體的部位 A 上束合一新的氨醯基- $tRNA$ 。(b) 由 $tRNA$ 之肽醯殘基處轉變肽醯，鏈接在 P 部位上，重新鏈接氨醯基- $tRNA$ 在部位 A 上，由此形成一新肽，以及(c)，將新形成的肽醯 $(n+1)$ $tRNA$ 由部位 A 移至 70S 核酸體的 P 部位上是藉 70S 核酸體的運動在負有 $tRNA$ 之 $mRNA$ 上以 $5' \rightarrow 3'$ 方向進行，直至鍵合在其特殊的 $mRNA$ 上的密碼子上為止。

階段 1 一個新而特效的氨醯基 $tRNA$ 鏈接在 70S 核酸體的 A 部位上，乃由 $mRNA$ 的 A 部位上之密碼子所決定。均與 GTP 及兩個延長作用的因子，

EFTu 及 EFTs 有關。EFTu 在一個具有 GTP 之錯合體中稱為 EFTu·GTP 與一個氨醯基 tRNA 反應生成一個三元錯合體 (ternary complex)，然後發生如下之事故：



所有氨醯基 tRNAs 必須與 EFTu·GTP 在 70S 核糖體的 A 部位上順序的束合是重要的。顯著的例外是 fMET-tRNA。因這種起始劑氨醯基 tRNA 並不與 EFTu·GTP 化合，它插入延長的聚肽中之內部位置是無效的。

階段 2 新肽鍵之形成乃由特殊之蛋白質與 50S 核糖體次單位催化而成用其 A 部位上之 tRNA 聯接的肽醯基部分傳送至 A 部位上的氨醯基 tRNA 而形成一新的肽鍵，而在 P 部位上遺留一脫醯基之 tRNA。相當高濃度之 K^+ 陽離子是此反應所需要的。讀者應回憶“NaK ATP 酶”之討論，這是與蛋白質合成有關的，(第 9-11-4-2 目)。有趣的是抗體素，普朗抗血素 (puromycin) 抑制蛋白質在此階段中合成。肽醯基移轉酶 (peptidyl transferase) 能由所存之 tRNA 移轉肽醯殘基鍵合在 P 部位上與普朗抗血素形成一種肽醯基普朗抗血素，此物由核糖體釋放出來且為不活性的 (圖 19-5)。

階段 3 移位程序涉及新肽醯基 tRNA 由 A 部位移至 P 部位，而由 P 部位上將脫醯基 tRNA 由核糖體處釋放。注意在此移動中剩餘的肽醯基 tRNA 鍵合在其密碼子 mRNA 上，但核糖體在一個 $5' \rightarrow 3'$ 方向中運動與肽醯基 tRNA 有關，由此位置在 A 部位超越 mRNA 上的次一密碼子。對此移位之發生需要一種新的因子也和 GTP 一樣被水解為 GDP + Pi。

GTP 的任務目前尚不清楚。GTP 被水解為 GDP + Pi，亦涉及 IF2 (束合在起始劑 tRNA 上)，EFTu (束合在氨醯基 tRNA 上)，以及 EFG (移位作用)。首先相信 GTP 之水解能直接或間接用於肽鍵之形成。有證據現在設想 GTP 水解為了再循環此等因子為了更進一步合成蛋白質。是多少與

由核酸體而來的三種因子（見前所列）之離解有關。

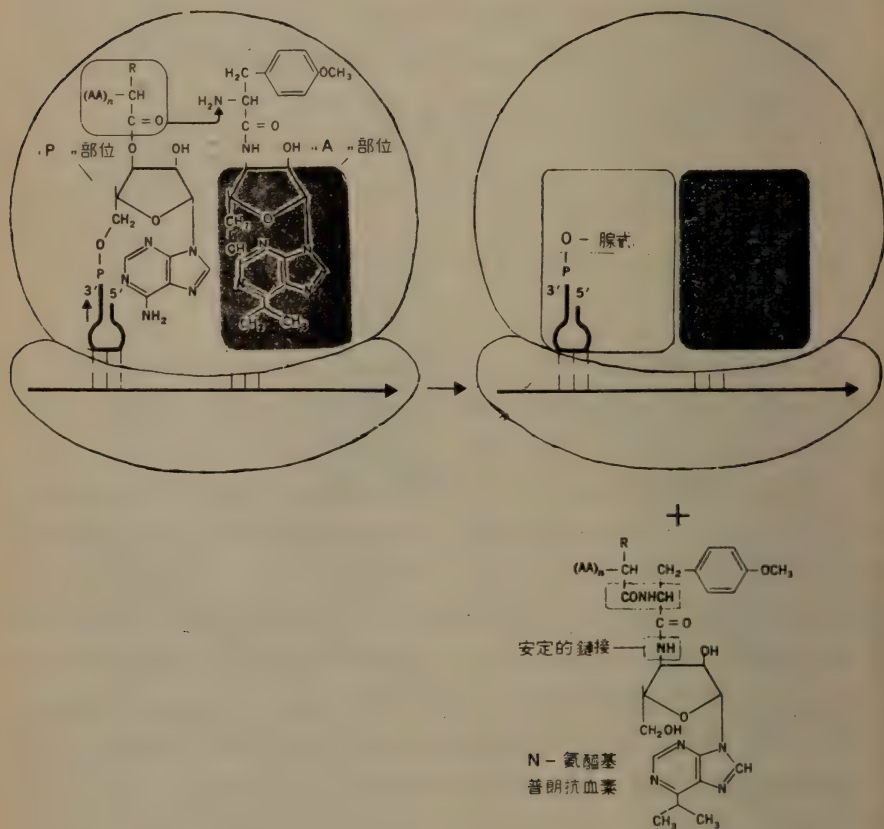


圖19-5 蛋白質合成之普朗抗血素抑制機程。

在真核的細胞中，已發現類似的移位作用。相當有趣味，真核細胞的 EF2 因子與准核細胞的 EFG 移位作用之功能相同，被白喉毒素（diphtheria toxin）使之成為不活性的。在 NAD^+ 環境下彷彿與自由 EF2 發生如下之反應：

圖 19-6 將延長作用程序摘要表示之。

19-9-3 終結作用 (Termination) 終結反應由兩件事務構成：(a) 在 mRNA 中認知一終結的信號，以及(b)最終之肽醯基 tRNA 酯鍵鏈之水解而釋出新生之蛋白質。終結密碼子為 UAA, UAG 以及 UGA。三種蛋白質均所需要者為 R1, R2 以及一個 S 因子。R1 因子為認知 UAA 及 UAG 所需要，及 R2 為對於認知 UAA 及 UGA 所需要。第三種蛋白質，S 具不釋出的活性，但似乎對於認知終結密碼子有助益。所呈現的景象可設想終結步驟能分成一個終結劑有關 R1 或 R2 因子的密碼子，及一個水解反應，在此反應中既非 R1 也非 R2 在 P 部位上轉換此肽醯基移轉酶活化進入一水解的反應中，將肽醯基 tRNA 引入水中而未引入另一氨醯-tRNA 中。最後的因子，TR，可能與由部位 P 處放出殘基 tRNA 有關。一俟 tRNA 移去，70S 核酸體即由 mRNA 處離解而為 30S 及一 50S 次單位，且為合成另外的蛋白質分子易於進入核酸體的循環中。IF3 與 30S 次單位結合，由此防止 50S 及 30S 單位的再結合，而且為再循環也製備了 30S 單位。

設想新生的蛋白質具有一個甲硫基丁氨醯基 NH_2 終結端，這必須在蛋白質完成其折疊順序之前便移去的。在此最終步驟中有兩種酶參與其事：

(一) 一種特效的脫甲醯基酶 (deformylase)：

甲醯基甲硫基丁氨醯肽 → 甲醯 + 甲硫基丁氨醯肽

Formyl methionyl peptide → Formic acid + Methionyl peptide

(二) 一種特效的氨基肽酶 (aminopeptidase)：

甲硫基丁氨醯肽 → 甲醯基丁氨酸 + 肽

Methionyl peptide → Methionine + Peptide

在圖 19-7 中摘要列出終結程序中之各種步驟。

19-10 體外完全蛋白質之合成 (In vitro Synthesis of Complete Proteins)

已概略地對於一蛋白質完全合成說明必需步驟的複雜配置情形。直至近幾年來，以 ^{14}C 標識的氨酸參與反應進入一未能肯定的三氯醋酸所製備之變性蛋白質才察見蛋白質合成。但，用以說明聚肽生物合成中有關之詳細步驟，現在可能用適當的模板 DNA 合成有效的酶類。例如基因對於 β -葡萄糖基移

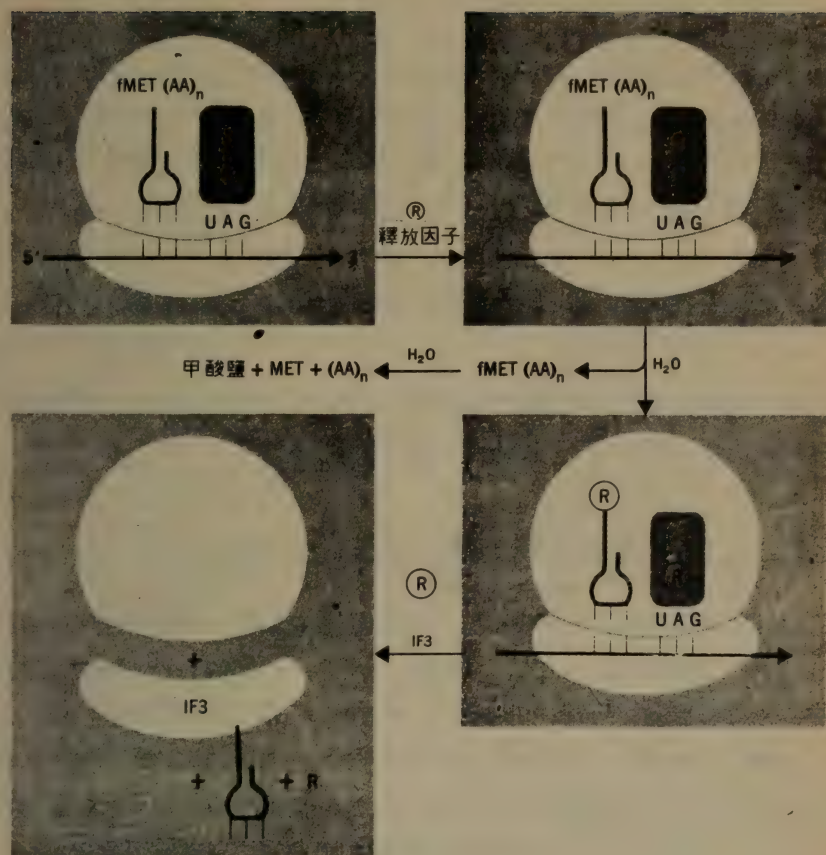
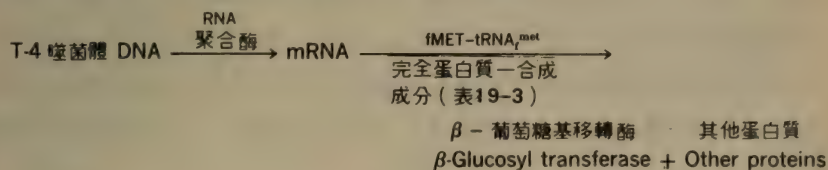


圖19-7 終結作用；步驟R（釋放因子）表示在第19-9.3項中R1（或R2），S，以及TR因子之結合作用。

轉酶（ β -glucosyl transferase）含有0.3-1%的T-4噬菌體DNA（T-4 phage DNA），故研究者能設立如下之圖解：



有些真核的mRNA已單離出來，且用適當的蛋白質合成系統來對作用子的信息（*cistronic message*）移入相同的蛋白質中做成程序表。此等mRNA包括珠朔（*globin*）RNA，卵白朔（*ovalbumin*）RNA，免疫珠朔組朔（*immunoglobulin histone*）RNA，晶狀體RNA，肌球朔（*myosin*）RNA，絲RNA，抗生朔（*avidin*）RNA，以及精朔（*protamine*）RNA。此等實驗完全證實發展的觀念，以陳述蛋白質合成的機程。

19-11 蛋白質的化學合成 (Chemical Synthesis of Proteins)

近年來，分子量達9,000的聚朔及蛋白質之化學合成已經成功的發展了。讀者應參攷第4-5-4項，俾知此等合成之詳情。

19-12 胰島素之生物合成 (Biosynthesis of Insulin)

概括描繪重要激素、胰島素之一般生物合成景象，以適當地說明真核的蛋白質合成之複雜性。D. F. Steiner氏曾以一系列的巧妙實驗陳述胰島素的生物合成是藉許多品種中胰臟之Langerhans氏小島的 β 細胞完成的。

英國F. Sanger氏的古典研究工作是胰島素之精確的氨酸順序可能造成胰島素之詳細的分子圖型。直至1965年相信胰島素可合成為兩種分離的聚朔，在若干方式中有一種趨向在兩條鏈中特別形成的二硫鍵鏈（*disulfide linkages*）便可產生胰島素。

1967年，Steiner氏證明較胰島素大的一種蛋白質分子乃在胰臟的 β 細胞中造成的，呈現胰島素先質之所有性質。稱為胰島素原（*proinsulin*），其分子量為9000（胰島素為6500 mol wt），且具81個氨酸殘基（胰島素51個）。能迅速被胰朔酶（*trypsin*）之准核的作用轉變為一種完全的生理活性的激素。

胰島素之生物合成模式今已就其在圖19-8中呈現之一般特性說明之。在蛋白質合成酶類，因子，以及適當的mRNA的環境下，核酸體圍繞着粗糙的細胞質內網狀結構（*rough endoplasmic reticulum* (RER)）之四周，而

合成胰島素原。單體聚肽迅即折疊，且有二硫橋形式使胰島素原移入 RER 池的內部，再經由 RER 之囊管（vesicular tubules）運輸至鄰接的 Golgi 氏器官中，此等事件之時間間隔平均約為 10 分鐘。一小時以後，未成熟的分泌粒（secretory granules）乃由 Golgi 氏器官之四周經泡化作用（vesiculation）而成。具一單純的有限膜，含有胰島素原（proinsulin），准核酶類，以及鋅離子。在 β 細胞之周圍迅速轉為成熟的粒，乃完全轉變胰島素原為鋅胰島素（zinc insulin）及 C-肽（見圖 19-9）。在適當的信號上，成熟的粒被分泌出來，藉逆轉的細胞吸液作用（reverse pinocytosis）進入血液中，在該處胰島素釋出。不僅胰島素而且 α -澱粉-酶（ α -amylase），核糖核糖酶（ribonuclease）等等亦均在胰臟的外分泌細胞藉此機程合成之。

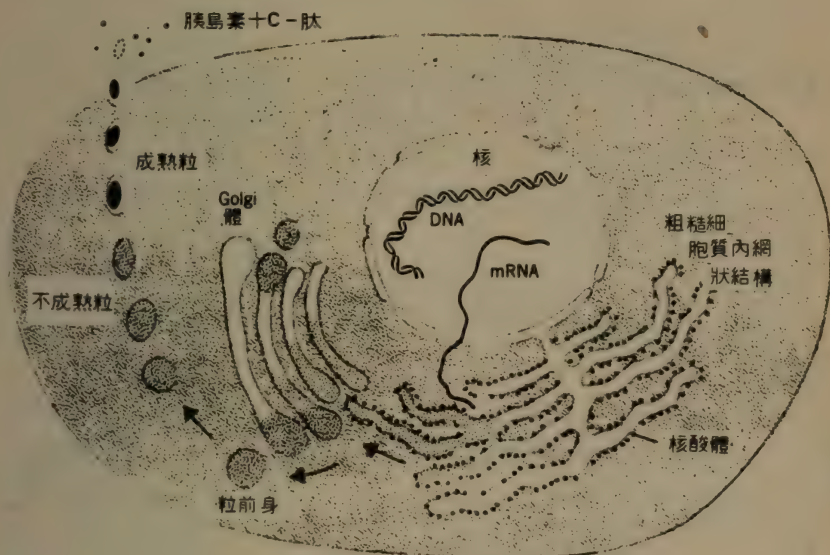


圖19-8 胰臟組織中Langerhans 氏小島之一個 β 細胞中胰島素生物合成的表示圖

Modified from a diagram by permission of D.F Steiner).

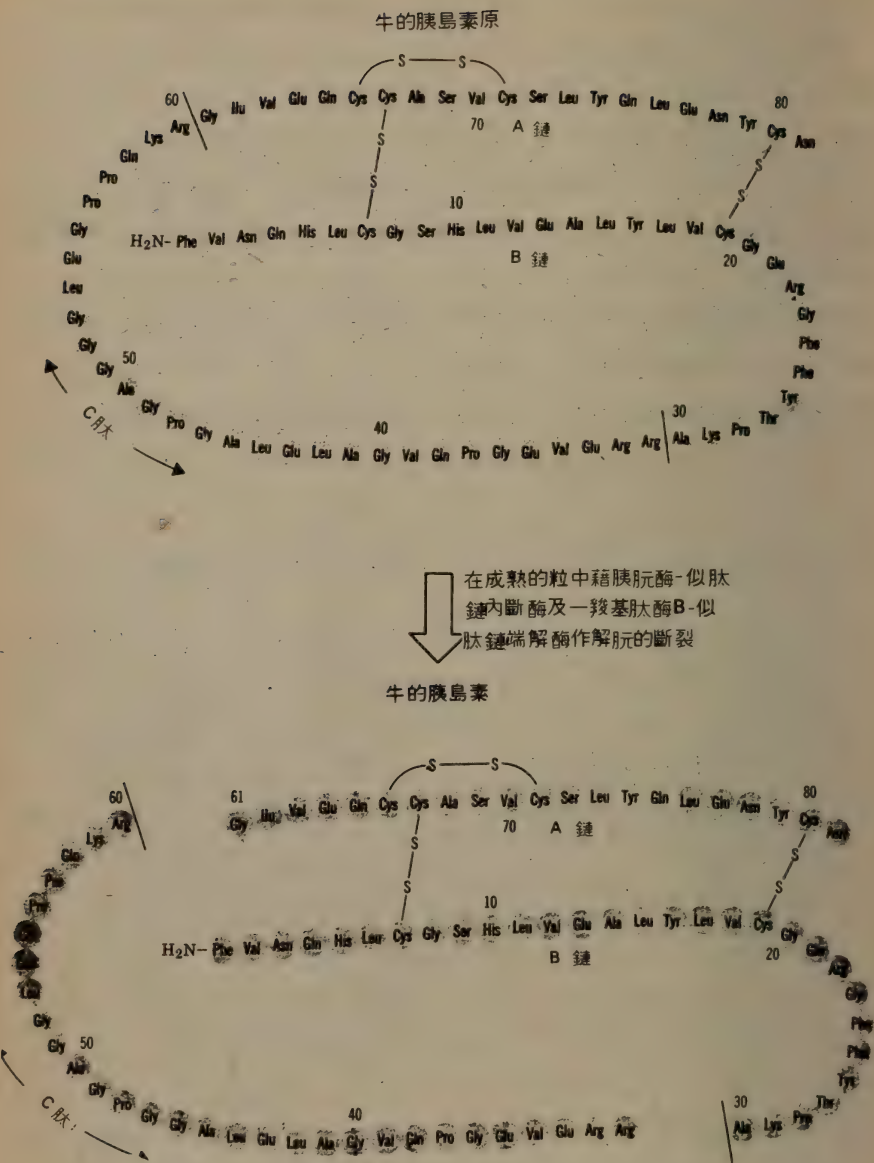


圖19-9 胰島素原轉變為胰島素。

於是引起一問題即細胞如何首先形成胰島素原。若干年前已明白顯示許多蛋白質之氨酸順序乃聚肽鏈之摺疊明確的在自然型象中指示方向。此事可由不摺疊的此等蛋白質藉 8M 尿素中之縮減很容易證明，使之在空氣中暴露行氧化作用而回復二硫鍵，且觀察被再氧化的蛋白質均與天然的一樣。但此型的實驗只能用於簡單的單聚肽鏈蛋白質。胰島素具有兩條聚肽鏈，不易再結合形成典型的天然結構，但却為無秩序任意形式的聚合。這種觀察可設想胰島素型象並非高度熱力學的有利且與二硫鍵之完整性有關。

適為尖銳的對比，胰島素原之收縮的聚肽鏈，若在空氣中以稀鹼溶液處理之，乃迅即回復其天然的免疫的活性達 80 % 的原來值。在相同情形下，胰島素則僅 1 %。故可得結論在生物合成中胰島素原之主要功能是在有高度利於熱力學的情況下易於適當的形成二硫鍵。

19-13 在代謝作用中之遺傳的缺陷 (Genetic defects in Metabolism)

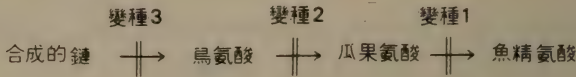
複製、轉寫，以及轉移之機程均已討論了，現在要對另一種生物化學領域中特別有趣的問題簡短陳述之。

在野生型或正常有機體中，有機體的總代謝作用是與酶類的配置如此唇齒相關，以致無代謝的中間物能在其中積聚。但，藉一遺傳的突變 (genetic mutation) 其中之關鍵性酶不會長久為一合成的活化形式，中間物能夠不是積聚至一有效程度便是被排泄出來。決定體內大量各種器官中所呈現的代謝途徑中間步驟時，此等遺傳的缺陷是特別有助益的。對於人類，此等缺陷導致所謂代謝作用的先天“畸型” (inborn errors)，悲劇性的疾病，且在許多場合均屬醫治不好的。

19-13-1 低級有機體 (Lower organisms) 麵包之黴菌粗糙鏈孢菌 (*Neurospora crassa*) 對生物化學的遺傳學家提供優良的物料。粗糙鏈孢菌之野生系往往在一由糖、鹽類，及生物素之簡單培養基上生長良好。若此等培養基暴露在一種突變劑諸如 X 射線中，則得變種物 (mutants) 只在起始培養基上以適當的營養情況下才生長。突變物之所需有系統的分析往往指陳需要一種新的單純營養。在此不擬討論遺傳分析之詳情，這是有關對染

色體上的位置或處所有新的營養需要，但亦用若干實例指出在代謝研究中此種一般方法的重大價值。

19-13-1-1 魚精氨酸之生物合成 (Biosynthesis of Arginine)
粗糙鏈孢黴的三種遺傳的不同變種已經發現了，且透過魚精氨酸之代謝作用的文獻資料，知在微小的培養基上加入三種氨基酸：魚精氨酸、瓜果氨酸，以及鳥氨酸中之一種或更多種時此等變種會良好的成長。變種 1 則僅在用魚精氨酸時生長，但並不供應瓜果氨酸或鳥氨酸。變種 2 則能同時用瓜果氨酸及魚精氨酸，但不用鳥氨酸時生長，而變種 3 只有在三種氨基酸均使用時才生長。此等結果能用圖解摘要，其中直行指示在一變種中之一種代謝的封鎖。



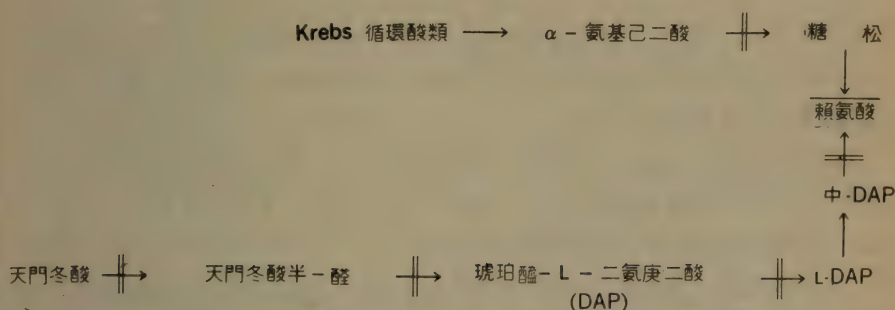
營養的變種將在受質上一般的成長這是來自代謝封鎖以後並非來自封鎖之前。可能在若干機會中，一種中間體會實際的積聚，因它不再進一步的代謝了。故，在變種 1 中，瓜果氨酸可積聚，因進一步的代謝作用缺乏轉變為魚精氨酸所需要的酶而被封閉了。由此分析生物化學家能說明魚精氨酸之合成順序必須依循之次序為——鳥氨酸——瓜果氨酸——魚精氨酸。

19-13-1-2 賴氨酸之生物合成 (Biosynthesis of lysine) 此法能應用於粗糙鏈孢黴以後的有機體以昭示生物合成之一種不相同的或更換的途徑。變種需要賴氨酸來生長已在粗糙鏈孢黴及大腸菌中發現，二者均能由糖及無機氮化物諸如硝酸鹽及氨來正常地合成賴氨酸。在粗糙鏈孢黴中， α -氨基己二酸 (α -amino adipic acid) 可被若干變種轉變為賴氨酸，但此等却不能用二氨基庚二酸 (diaminopimelic acid)，且其先質將被積聚在不同的大腸菌變種中。這種積聚先質的變種在正常存在的用於一所與先質的酶中均屬缺陷。此等結果可在圖解中示明。

研究此型變化的價值已顯露，且昭示新的途徑，就像在各種有機體中認可的建立途徑。同樣的研究已由大量有機體用變種物來實行在氨酸、核酸、維生素、樸啉、色料，以及脂肪酸中之代謝作用。不但得到代謝作用的知識，此等研究也指示一有機體的酶的能力與其遺傳間之直接關係，且已導致“一個基因 - 一個聚肽鏈” (one gene-one polypeptide chain) 之假說，這假說是說明一單純的基因 (遺傳因子) 控制一單純的聚肽合成。分離的鏈集合

而產生活性的酶。故變種物 2 在魚精氨酸的途徑中不再具有能力來合成活性的酶蛋白質以應產生魚精氨酸之需要，因一特效的遺傳處所已被破壞矣。

雖然一個基因 - 一個聚肽的假說乍看是一個很簡單的。但至少有三種方式使一遺傳的變更能影響酶活性。它能(a)造成酶之分子結構中之變化；(b)降低酶之濃度，而因此變更反應率；或(c)呈示一間接效果使酶本身不起變化。此問題之若干景象將在第廿章中討論。



19-13-2 在哺乳類中代謝作用的先天誤差 (Inborn Errors of Metabolism in Mammals) 人類許多疾病與遺傳的封閉有關。這些疾病包括黑尿病 (alkaptonuria)，其中有一遺傳的封閉在尿黑酸 (homogentisic acid) 之使用中，黑尿酸在酪氨酸氧化中是一中間物。苯酮尿 (phenylketonuria) 病症是其中之苯基丙氨酸不能轉變為酪氨酸。還有半乳糖血症 (galactosemia)，其中之半乳糖不能直接使用。對此半乳糖血症之生物化學的解釋已早在第十章中討論，不複贅。

有一種堪注意的遺傳性疾病稱為“鐮形細胞貧血症” (sickle cell anaemia)。人類血紅朊 (hemoglobin) 幾乎由血紅朊 A 組成的，此物乃由 2 個 α -肽鏈及 2 個 β -肽鏈造成的 $\alpha_2\beta_2$ 。患者之鐮形細胞貧血症乃孟德爾型 (a Mendelian fashion) 的遺傳病。雜合的個體 (The heterozygous individual) 含有一個正常的及一個不正常的等位基因 (allele, abnormal allele)，產生約為等數量的血紅朊 A 及 S。但純合的個體 (homozygous individual) 則只產生不正常的血紅朊 S。血紅朊 S 溶解度低且對不正常的或紅血球的鐮形要負責。因此等細胞被脾臟破壞，病家乃得嚴重的貧血症。血紅朊 A 及 S 之不同是對由 β -肽鏈之 NH_2 末端真起第六個氨酸上以一穀酸殘基取代

爲賴氨酸殘基：

正常的：

β 鏈 NH_3^+ -Val-His-Leu-Thr-Pro-Glu-Glu-Lys...

不正常的：

β 鏈 NH_3^+ -Val-His-Leu-Thr-Pro-Val-Glu-Lys...

在A及S血紅朊二者中 α -肽鏈均相同。故在300個殘基以上有一個氨酸之不同便會在體內與氧傳送有關的色素物理性質中遭致一種猛烈的嚴重的變化。像這種突變有一個單純氨酸取代的，稱爲“點突變”(a point mutation)。或者在DNA之部分已發生一單純的鹽基變化，這涉及血紅朊A的密碼排列。有趣的是對於鹘酸在傳遞者RNA中密碼子的試驗顯示鹽基三合體：GAA及GAG；而對於賴氨酸，則爲GUA及GUG。

在代謝作用中最後一先天畸型的實例是 Tay-Sachs 病，一種致命的腦退化病，在一常染色體隱性方式 (autosomal recessive manner) 中爲無秩序的傳遞。主要缺陷是水解酶， β -D-N-乙醯基己糖醯胺酸A (β -D-N-acetylhexosamidase A) 之完全缺乏，這種酶可正常的由儲存的腦神經節貳脂 (ganglioside) 分裂末端N-乙醯基半乳糖胺 (N-acetylgalactosamine) 殘基。在大腦中缺乏大量的此種多糖之積聚，乃導致沉重的精神的及運動性的退化，2-4歲便夭折。所幸對此酶一種精巧的生前試驗能對有禱合載體可疑的孕婦實行分析其羊膜水 (amniotic fluid) 或羊膜的細胞。在 Tay-Sachs 載體中低量此酶之高度調整，及胎兒之具此疾病的可酌量推荐治療的流產術，因該病是不治之症。

參 考 文 獻

1. 讀者應參攷最近出版的 *Annual Review of Biochemistry* 其中有關於蛋白質合成方面，迅速發展的報導。
2. P. D. Boyer, ed., *The Enzyme*, vol. X. 3rd ed. New York: Academic Press, 1974. 此書對所有在本章中所論之有關蛋白質合成的論題均涵蓋無遺，爲一優良之參攷書籍。

習 題

1. 如何預言最少數量的特效酶類是合成一環狀肽所必需的，諸如短桿菌肽-S (gramicidin-S) ？
2. 何以在一蛋白質及一三肽合成之複雜性中有如許顯著之不同？
3. 試在(a)一碳水化合物，(b)一脂肪酸，以及(c)一蛋白質之合成中在構造單位的活化作用上研討其第一步驟。並比較各個不同機程。
4. 一為 DNA 其鹽基順序示明如下乃以 ATP, UTP, GTP, CTP, GSH, 核酸體，所有 20 種氨基酸，以及一個無細胞製備的已知含所有 20 tRNA, RNA 聚合酶以及所有氨基酸活化酶類所孵化的。所合成的聚肽最初結構為如何？

DNA: GAUAAGGGATTACCTTTATTATTGTATCTCGGTTTCG

5. 試比較一真核的蛋白質合成，胰島素與一真核蛋白質諸如 β_2 - 半乳糖甙酶之合成 (見第 20-8-1 項)。

第二十章

代謝的調節作用

Metabolic Regulation

目標 在本章中將參與代謝的調節作用中許多因子的互相關聯，涵蓋以前各章。又將首先研討一些動力的因子包括抑制作用的型式也像酶類之化學的改變一樣可直接影響酶的活性。然後將對用做擴大系統之階式順序(cascade sequences)定義之。最後，則討論藉轉寫的調節作用控制酶合成。

20-1 引言 (Introduction)

一細胞之生長及維持需要高度完整的調配組成代謝的及分解代謝的程序。因代謝機構之官能單位是酶催化之反應，此單位之控制在代謝調節中變為基本的性質。

在過去幾年間代謝作用的調節機程已廣泛研究，不論在准核的或真核的有機體。而課題是複雜的，且仍在初期，統一的原則均在開始展露中。做為一多方面的項目，代謝的調節涉及(a)酶類的分組，(b)一關鍵受質之分解代謝及組成代謝之交替或分別的途徑，(c)涉及受質，輔因子，以及酶類相互作用之動力因子(kinetic factors)，以及(d)酶活性及酶濃度之控制。酶合成及降解之速率轉而控制細胞中酶之實際功能的濃度。

20-2 酶之分區 (Enzyme Compartmentation)

20-2-1 准核的細胞 (The Procaryotic Cell) 准核的細胞已被生物化學家二十餘年來用於做為一種模式細胞來闡釋細胞代謝作用的所有景象了。在結構一項它勿寧謂一簡單的細胞，具一血漿膜，其上有大量關鍵性的酶類結合(第九章)及一細胞質的範圍，其中代謝作用之主要途徑在一令人驚奇的有秩序方式中進行着。血漿膜彷彿對細胞器酶類做為一受質，其中酶

類往往與真核的細胞器膜結合，諸如在呼吸鏈鎖中參加的，以及氧化性磷酸化作用也和磷脂之生物合成一樣，均在准核血漿膜中發現了。乍見之下，准核質之細胞質可呈現小結構，但有不斷增加的證據。在此範圍內之酶類可設想為一鬆弛的，脆弱的有機體結構。例如，近來的證據設想有醯基載體蛋白質 ACP (acyl carrier protein. ACP)。(參見第8-10-3項)：(一種高度溶解的蛋白質對脂肪酸合成有基本重要性，相當均勻分散在大腸菌之細胞質範圍內)也是鬆弛的結合或浮層在細胞之血漿膜內表面上。它是十分容易鬆散的，不安定集聚的酶類均與准核細胞中有順序的代謝反應有關。但在細胞受到生物化學家之強烈刺激時就立刻分裂之。

20-2-2 真核細胞 (The Eucaryotic Cell) 但在真核的細胞中有完全不同的處境。在此等細胞中代謝機構對非常特殊的目標發生分區情形。猶如在准核有機體中，真核的有機體之血漿膜涉及選擇性傳送重要陽離子，陰離子以及中性化合物也和做為一載體一樣由外處至一整個宿主的激素接受部位 (acceptor sites)。核對於遺傳的資料及對於轉寫此資料是一個部位，即 mRNA 之生物合成，在核質中 tRNA 之合成，以及在核仁中 rRNA 之合成，以及此等分子之廣續改變，及傳送至細胞中，俾便 mRNA 之平移進入稱之謂酶類的催化單位。線粒體因其為酶之錯合體而具特性，乃維持整個細胞之能量。細胞質內網狀組織做為酶類及蛋白質合成系統重要膜之一個部位。溶酶體 (lysosomes) 對於水解酶類之宿主均為特殊的區間隔 (compartments)。溶酶體的功能為細胞之“清潔夫” (scavengers) 且在死後自溶作用反應中是活性的。在真核細胞中的 Golgi 氏器官與形成分泌體有關，也參與細胞膜及細胞壁之形成。在植物中，葉綠體為產生氧，ATP，以及植物細胞還原能力之原細胞器 (prime organelle)。讀者應參攷第九章，其中有更深入的資料。

其他分區的研討是由每種其他系統中做空間的分離多重酶系統。故，在葡萄糖降解為二氧化碳及水的過程中，至少涉及三種途徑：糖酵解，戊糖磷酸循環，以及三羧酸循環。糖酵解酶類及戊糖磷酸循環的酶類均在細胞質中發現，而三羧酸循環之酶類則在綫粒體內部，因均密切束合電子輸送的特殊酶類及氧化性磷酸化酶類。一種親密的關係必須在三種代謝順序間存在，且在此途徑中任何相互衝突將會使葡萄糖代謝作用破壞或改變。尤有進者，磷酸根及鎂離子之濃度，ADP 與 ATP, NADP⁺ 與 NADPH, NAD⁺ 與 NADH，

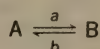
或氧與二氧化碳之壓力各各之比率有任何變化也會影響此種合作關係。

在代謝的控制及調節作用中尙有其他因素是綫粒體的本領，能集中輔酶類，受質，以及酶類遠在此等粒子發現的濃度以外。依此機程“酶催化反應”之動力影響綫粒體中的變化都是很大的。

一種最後，但困難的因素是酶順序之可能的物理分區，應介紹新的變數諸如受質、酶類，以及輔因子對滲透性障壁的關係。

20-3 對立的單向反應 (Opposing Unidirectional Reactions)

生物化學反應有大量是可逆的，所以如此，是因涉及兩種分離的酶：一種是催化前向反應，而另一種則是後向反應。故稱為對立的單向反應，且可導致無益的循環 (futile cycles)：



可列舉各種複雜的典型實例：

- (1) (a) 葡萄糖 + ATP $\xrightarrow{\text{己糖激酶}}$ 6-磷酸-葡萄糖 + ADP
 (b) 6-磷酸葡萄糖 + H₂O $\xrightarrow{\text{6-磷酸解酶-葡萄糖}}$ 葡萄糖 + Pi

- (2) (a) 6-磷酸果糖 + ATP $\xrightarrow{\text{磷酸果糖激酶}}$ 1,6-磷酸果糖 + ADP
 (b) 1,6-二磷酸果糖 $\xrightarrow{\text{果糖-1,6-磷酸解酶}}$ 6-磷酸果糖 + Pi

- (3) (a) 醋酸 + ATP + CoA $\xrightarrow{\text{硫激酶}}$ 乙醯基-CoA + AMP + PPi
 (b) 乙醯基-CoA + H₂O $\xrightarrow{\text{硫酯酶}}$ 醋酸 + CoA

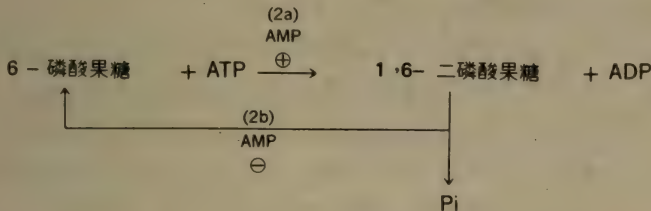
- (4) (a) 乙醯基-CoA + CO₂ + ATP $\xrightarrow{\text{乙醯基-CoA 羧化酶}}$ 丙二醯基-CoA + ADP + Pi
 (b) 丙二醯基-CoA $\xrightarrow{\text{丙二醯基-CoA 脫羧化酶}}$ 乙醯基-CoA + CO₂

- (5) (a) 磷酸烯醇丙酮酸 + ADP $\xrightarrow{\text{丙酮酸激酶}}$ 丙酮酸 + ATP
 (b) 丙酮酸 + CO₂ $\xrightarrow{\text{ATP}}$ 草醋酸 $\xrightarrow{\text{GTP}}$ 磷酸烯醇丙酮酸 + CO₂

- (6) (a) 1-磷酸葡萄糖 + UTP \longrightarrow UDPG \longrightarrow 糖原
 (b) 糖原 + Pi $\xrightarrow{\text{磷酸化酶}}$ 1-磷酸-葡萄糖

在所有場合中，前向反應(a)為一特效酶所催化，而後向反應(b)又為一完全不同之酶所催化，往往又是水解的，且又本質上是不可逆的。細胞利用此等反應涉及兩種完全不同的酶類組群，俾精密調節反應(a)及(b)因欲控制反應(a)或(b)用一單純的酶是非常困難的。但，控制在此等系統中必須發揮力量，因此等對立的反應須偶聯成對且導致無益的循環活性。故，反應1-6若不與其他系統偶聯，便可導致一種核貳三磷酸之淨水解反應，而得核貳二磷酸及無機磷酸。例如再檢視反應2a及b。

顯然，若磷酸果糖激酶及1,6-二磷酸果糖激酶，即分別催化反應2a及b者，均無控制，此等反應在一淨的ATP酶反應中導致一無益的循環，糖酵解及糖原異生在此點上，面臨一困難的障礙。所幸二者之酶均在反效的控制(allosteric control)下的。故，在AMP環境下6-磷酸果糖之裂解為一產生ATP之步驟應是利於進行的，因AMP為一正性效應子；而同時AMP對於逆轉的反應(2b)又是一種負性效應子，故果糖1,6二磷酸解酶之活被減弱：



讀者應領悟6-磷酸果糖 $\xrightleftharpoons[(2b)]{(2a)}$ 1,6-二磷酸果糖步驟之重要性。此二種對催化作用負責之酶類均具多重控制特性，其中若干種已在第10-7-2項中陳述了。

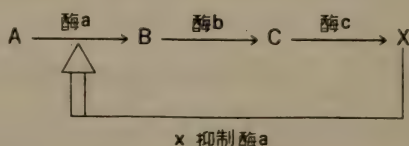
在脂肪酸之合成及降解中，細胞在此等催化的及組成代謝的系統中安排了進一步的限制，即 β -氧化酶在真核有機體中局處在綫粒體中（且在若干植物種子之乙醛醯體中，而有關ATP之合成酶(synthetase)則局處於細胞質中。此外， β -氧化反應用做中間物中之一種L- β 羧基醯基-CoA衍生物與CoA為一專用的硫酯成分，而在所有有機體中有关ATP之合成酶利用具有醯基載體之D- β -羧基醯基硫酯為硫酯部分。在准核的有機體中，降解及合成的系統均可溶解，但 β -氧化系統在非常低濃度中發生，事先則曝露於脂肪酸受質中。

20-4 動力的因子 (Kinetic Factors)

全書中已討論許多化合物〔效應子，調節子 (modulators)〕對一組群稱為調節酶類的活性是有影響的。調節酶之活性乃由稱為正性效應子，化合物之活性所調節或被負性效應子所抑制。抑制作用可能被三種抑制型式中之任何一種表現出來。這三種型式稱為競爭性的 (competitive)、非競爭性的 (noncompetitive)、或無競爭性的 (uncompetitive)，或為此等三種型式之任何一種組合 (見第 7-9-1 項)。今將對許多重要的酶活性變更情形用代謝物 (或效應子) 更詳盡的說明之。

20-4-1 生產物抑制作用 (Product Inhibition) 一種反應之簡單抑制作用是稱為“生產物抑制作用”，在此反應之生產物藉質量作用效應抑制自身的形成。故，在葡萄糖以己糖激酶轉變為 6-磷酸葡萄糖時，6-磷酸葡萄糖開始積聚，則反應慢慢變緩。對此反應此酶應在反應之起始時期實驗以避免為積聚之產物所抑制。

20-4-2 反饋 (最後產物) 抑制作用 [Feedback (End-Product) Inhibition] 酶作用之一種最精巧型式的控制是所謂反饋抑制，又有稱為回生禁制的。由如下之順序最易說明：



此處 X 乃順序中之最終產物，用以防止其自身先質之一的生成即抑制酶 a 之作用也。此順序中之第一種酶，又稱一種單價調節或反效酶 (a monovalent regulatory or allosteric enzyme) 即酶 a，又稱起搏點 (pacemaker)，因全部順序被其抑制有效地調節。一實例為在大腸菌中由天門冬酸及氨基甲醯磷酸鹽形成的三磷酸細胞嘧啶核式 (cytidine triphosphate) CTP (圖 20-1)。因 CTP 之臨界濃度建立，此三磷酸鹽為此酶抑制漸漸緩慢其自身的形成。天門冬酸轉氨基甲醯酶 [aspartate transcarbamylase, (ATCase),] 催化此氨基甲醯天門冬酸之起搏點。在三磷酸濃度被代謝的使用充分

地降低時，抑制作用乃鬆弛，而其合成再度興起（圖 20-1）。

起搏點反應 (Pacemaker reaction)

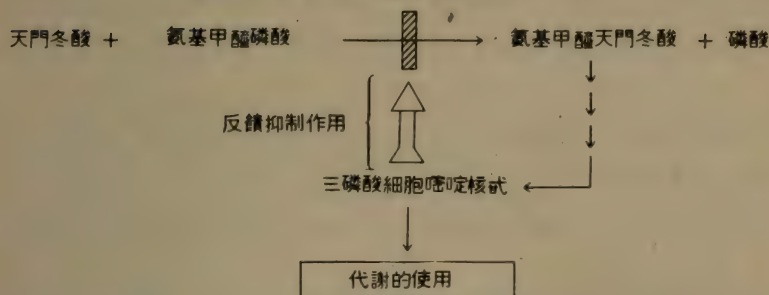
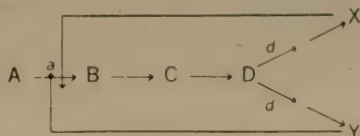


圖 20-1 在此圖解中，當代謝的使用變低及 CTP 濃度增大時，反饋抑制作用乃開始操作。當代謝的使用變高及 CTP 濃度降低時，反饋抑制作用乃停止操作。

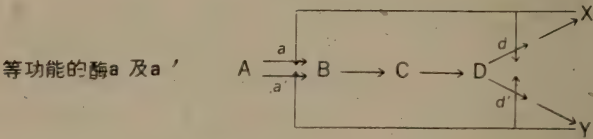
在所有反饋抑制作用中，抑制劑（效應子或調整子）不具其所調整之酶的受質相同結構性。故 CTP 不像天門冬酸，這種對於天門冬酸轉氨基甲醯酶之受質。尤有進者，所有反效酶迄今所研究的均為“低聚酶類”（oligomeric enzymes），即具有二或多個各別的次單位。例如天門冬酸轉氨基甲醯酶易於分解為兩個大的次單位，其中之一載負催化的部位，而另一則為調節部位。第一個次單位，一俟脫離第二個或調節部位時，便具 Michaelis-Menten 動力而非 S 型動力（sigmoidal kinetics），且現在不再被 CTP 所影響了。第二個單位不具有催化活性，但與 CTP 強烈束合之。

今討論代謝順序之反饋抑制作用的變化。線性順序之調節作用早已稱之謂一種在此順序中第一種酶的“逕直最終產物抑制作用”（straightforward end-product inhibition），是一種單價反效酶。但一支脈生物合成其途徑為 X 及 Y 所調節，可導出一情況，在此情況中有一過剩的最終產物不僅使 X 之合成減少，而且也使另一最終產物減少，便不是一種優良的控制系統，但有些機程已察見可解決此困惑：

單價反饋
(單獨由 X 佔用 Y 為不活性的)
二價反饋
(由 X 及 Y 的作用)



異功能酶類 (*Isofunctional enzymes*)。在此機程中第一種常見的步驟是被兩種不同或異功能酶類所催化，乃轉變相同受質為相同產物。但酶 *a* 在 *X* 之特效反饋控制下，而酶 *a'* 為無活性的，且酶 *a'* 在 *Y* 之特效控制下對 *X* 為不敏感的。因酶 *a* 在最後一刻應仍涉及 *B*，*C*，以及 *D* 之合成，一第二反饋



控制必須被兩種最終產物所影響，這兩種產物 *X* 者作用於酶 *d*，*Y* 者作用於酶 *d'*。故若 *X* 過量的形成則不僅抑制酶 *a* 且亦抑制 *d*，但未干擾 *Y* 之合成。此控制機程之最佳實例已在由天門冬酸生物合成之賴氨酸，甲硫基丁氨酸，蘇氨酸，以及異白氨酸中陳述，其簡單途徑在圖 20-2 中示明。

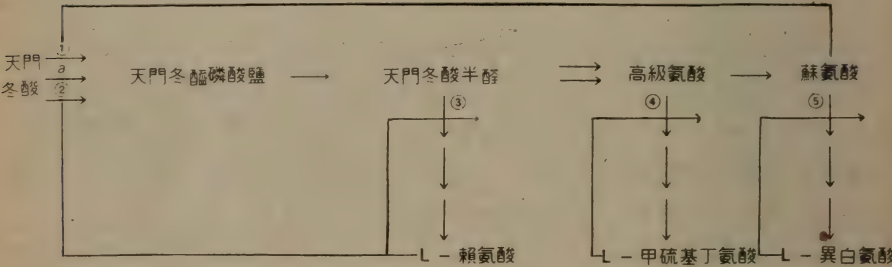
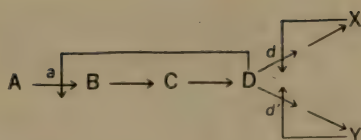


圖20-2 氨基酸合成之反饋控制：①，②，*a*→異功能天門冬酸激酶：①—被蘇氨酸單價反饋抑制：②—被賴氨酸單價反饋抑制 *a*—不是一種調節酶；③，④，⑤—分別被賴氨酸，甲硫基丁氨基以及異白氨酸所反饋控制。

連續的反饋控制 (*Sequential feedback control*)在此機程中，酶 *a* 並不被支節途徑之最終產物所調節，但，*X* 將抑制轉變最後常見之受質 *D* 為 *X* 之先質的酶。

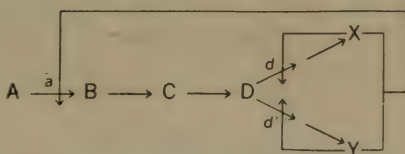
連續的反饋



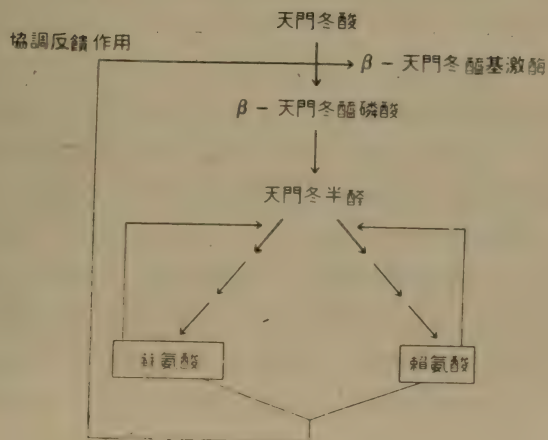
而Y將抑制轉變D為Y之先質的酶。由此D將積聚且抑制酶a，而截止全部途徑。此途徑之實例已在一些細菌內芳香族酸生物合成，以及蘇氨酸及異白氨酸在玫紅假單胞球菌（*Rhodopseudomonas spheroides*）之調節作用中察見。

協調的反饋抑制作用（*Concerted feedback inhibition*）在此系統中，酶a對Y或X單獨時均不敏感，但在二者一齊呈現時，它們協調一致的作用抑制酶a。再度顯示X及Y呈現第二控制，因有X之抑制酶d，及Y之抑制酶d'。

協調反饋作用

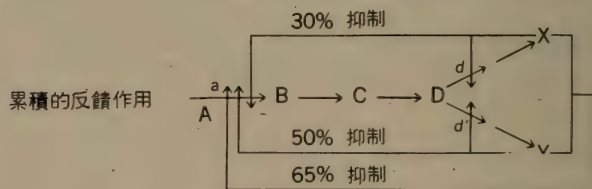


故若有X被合成而過量，則僅抑制其自身之合成為酶d之活性所控制，而Y



則被合成。因Y積聚X及Y現在能協調地抑制酶a，在X及Y二者環境下抑制作用才敏感。有一良好實例即玫紅假單胞莢膜菌（*Rhodopseudomonas capsulatus*）處來的天門冬醣激酶藉蘇氨酸及賴氨酸結合的抑制作用。單獨此等氨酸均為不生效的抑制劑。

累積的反饋抑制作用（*Cumulative feedback inhibition*）：在此機程中，X及Y，在飽和濃度中只影響酶a之部分抑制作用，但當二者均同時存在，則察見有一累積效果。故，若X在飽和濃度抑制a，如此則其殘餘的活性為70%及Y單獨抑制a為50%，於是X及Y二者均呈飽和濃度時殘餘的活性將為 0.7×0.5 或35%的總活性矣。抑制作用則為65%。此型調節作用之優良實例為麩醯胺合成酶之調節，已在本章中有若干詳盡的陳述。



20-5 調節酶類之化學的修改（Chemical modification of Regulatory Enzymes）

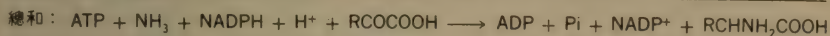
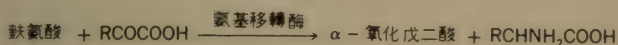
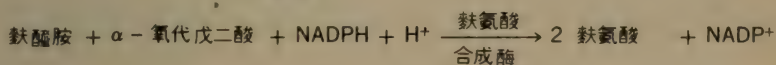
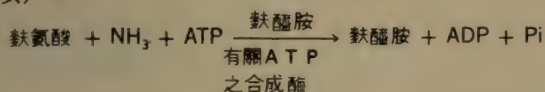
已見線性的也和支鏈性的生物合成途徑一樣能被不同型式的反饋控制作用選擇性的調節。一些此等調節酶被具有效應子誘使蛋白質結構中起了型態的變化，於是改變了酶之物理的催化部位。另有一種機程涉及化學的修改乃是調節酶被特效的原子團（基）共價的接合在被調節的酶上，導致此酶的第一，然後第三結構中之變化。修改的蛋白質均為特殊的酶類，可嵌入及移動特效原子團（基）包括磷酸基及腺甙基成分在內。表20-1中列出若干被化學修改的調節酶類。

20-5-1 麩醯胺有關ATP之合成酶，一實例（Glutamine Synthetase, An Example） 麩醯胺在准核的及真核的有機體內氮代謝作用中是一個關鍵化合物。不僅是許多蛋白質之一成分，且亦為大量重要生物化學化合物之一種先質（圖20-3），此外它參與基本的不可逆與ATP有關由 α -氧化戊二酸之合成麩氨酸（第16-4節及17-4-2-1目），而且又轉而在大

表20-1 被化學修改的調節酶類

酶	來 源	修改的機程	變 化	本書參考 (節 數)
糖原磷酸化酶	真核有機體	磷酸化作用/ 脫磷酸化作用	增加/減少	10.12
磷酸化酶b 激酶	哺乳類	磷酸化作用/ 脫磷酸化作用	增加/減少	10.12
糖原有關ATP 合成酶	真核質	磷酸化作用/ 脫磷酸化作用	減少/增加	10.12; 10.11.2
丙酮酸脫氫酶	真核質	磷酸化作用/ 脫磷酸化作用	減少/增加	12.6
激素敏感的脂酶	哺乳類	磷酸化作用/ 脫磷酸化作用	減少/增加	13.5
麩醯胺有關ATP 合成酶	大腸菌	腺苷酸化作用/ 脫腺苷酸化作用	減少/增加	20.5.1

量氨基酸藉氨基轉移作用之生物合成中為 NH_2 -原子團 (基) 之給予者。(第8-8-3項)：



故，在氮代謝作用中其中央位置，麩醯胺有關ATP之合成酶對代謝的控制為一極重要的標的物。今將稍加詳盡的研究大腸菌中此酶是如何被調節的。

大腸菌麩醯胺有關ATP合成酶 (*E. coli* glutamine synthetase, (GS) [按與一般之合成酶 (synthase) 不加“有關ATP”等字加以區別，請讀者注意，譯者註]。至少是四種不同機程的控制主因。這四種機程是：(a)動力因子 (kinetic factors) 包括ATP及二價陽離子之濃度，(b)在有機體生長中在氮源影響下酶合成之抑制及消除抑制作用 (repression

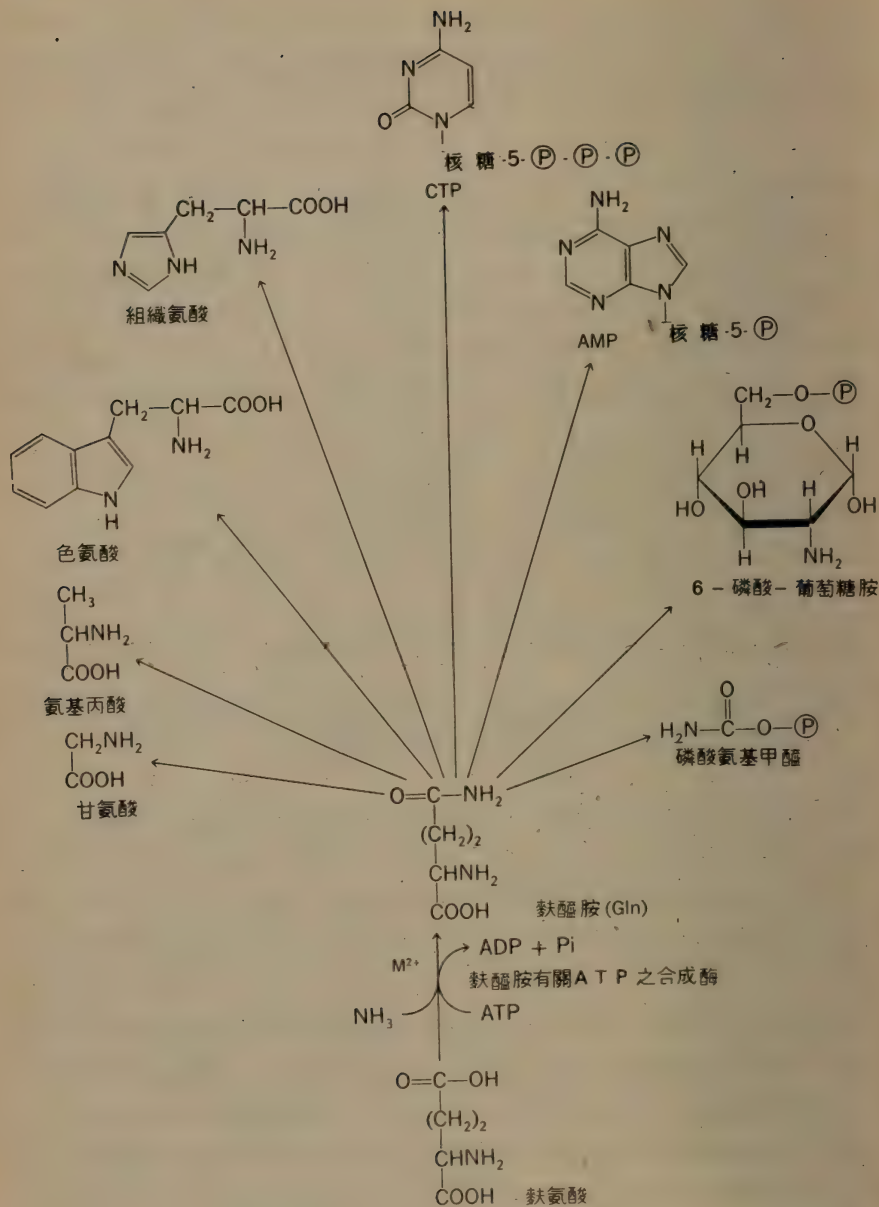


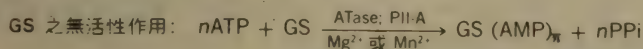
圖 20-3 麸酰胺 (Gln) 之生物合成及代謝的途徑。麸酰胺代謝作用的最終產物在此示明 (即甘氨酸：氨基丙酸等等) 均為麸酰胺有關 ATP 之合成酶 (GS) 之最後產物累積反饋抑制劑。

and derepression) , (c) 藉麩酸代謝作用之多重最終產物而累積的反饋抑制作用, 以及最後的, (d) 藉特效酶, 與腺甙酸殘基之接合及釋出, 對有關 ATP 之合成酶的化學修改。這最後一種機程將稍詳盡的討論之。

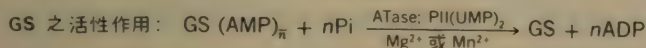
(GS) 的化學修正涉及一種腺甙醯作用-脫腺甙醯作用循環 (adenylation-deadenylation cycle)。GS 之分子量為 600,000。含 12 個相同的次單位或原粒 (protomers), 每個具分子量 50,000 及有一個部位可藉 ATP 完成腺甙醯作用。故, 一完全的腺甙醯的酶應具 12 個腺甙基 (GS₁₂) 對於腺甙基部分接受者為聚合之次單位聚肽鏈中一個酪氨酸殘基之羥基。這是很有趣的, 當 ¹⁴C-腺甙基-標識的麩醯胺有關 ATP 合成酶被准核酶被消化時, 有一個十肽單離出來, 其中除酪氨酸外含有三個脯氨酸殘基。早在第 4-7 節已見到在調節部位的臨界範圍內含有大量脯氨酸, 此範圍稱為酪氨酸殘基, 提供第二結構的範圍。或者在此範圍中活性的酪氨酸殘基乃如此安置使腺甙基原子團能易於鏈接或移去。

對此“腺甙酸化作用-脫腺甙酸化作用循環”之功能, 需要四種補助的蛋白質:

- (a) 腺甙醯基移轉酶 ATase, Adenylyltransferase ATase (130,000 mol wt.)
- (b) PII 調節性蛋白質 (50,000 mol wt) 有兩種型式存在: PII-A 及 PII(UMP)₂。
- (c) 尿甙醯基移轉酶 UTase, Uridylyltransferase UTase (160,000 mol wt)
- (d) 尿甙醯基移去酶 URase, Uridylyl removal enzyme URase 此等蛋白質催化如下之反應:



此處 $n = 1$ 至 12



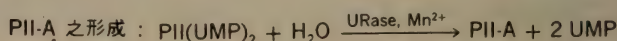
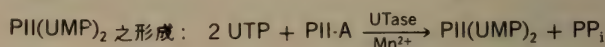
GS 之活性直接比例於酶之腺甙醯化作用之延伸。添加的關鍵因子涉及 GS 之活性的表示法是細胞中 Mg^{2+} 與 Mn^{2+} 之比率。故完全未被腺甙醯化的 GS (GS₀) 以 Mn^{2+} 為陽離子的輔因子不具活性, 但與 Mg^{2+} 具最大活性, 而完全腺甙醯化的 (GS₁₂) 與 Mg^{2+} 不具活性, 但與 Mn^{2+} 完成的 GS₀ 的 $\frac{1}{4} + \text{Mg}^{2+}$

系統的 $\frac{1}{4}$:

	活性 (%)
$GS_{\delta} + Mg^{2+}$	100
$GS_{12} + Mg^{2+}$	0
$GS_{\delta} + Mn^{2+}$	0
$GS_{12} + Mn^{2+}$	25

GS 活性之中間程度均由腺甙醯作用的程度及細胞中 Mg^{2+}/Mn^{2+} 比率變化程度而完成的。設想在生理條件下，細胞具有之金屬陽離子 Mg^{2+} 比 Mn^{2+} 的占優勢；故活性之生理的表示法乃在 Mg^{2+} 活化作用的影響下進行的。

如前指陳者，PII 有兩種形式存在，PII-A 及 $PII(UMP)_2$ 及其相互間之轉變乃被如下二反應所催化：



故，GS 之調節因兩種相互轉變系統而發生，即藉 PII 調節蛋白質而相互聯繫的。圖 20-4 摘錄此等事件。

無論何時討論調節性酶及其效應子之功能總是與分子的事故有重要關係的，猶如細胞之在體內的情況。例如在細菌細胞放置在低氮營養的情況下，則在細胞液中含氮代謝物相當減少包括麩氨酸及其產物，而 α -氧代戊二酸，麩醯胺之碳骨架則增多。在此等情況下，未腺甙醯化的 GS 常常由在此等情況下生長之細胞中得到。腺甙醯化的 GS 則由用過剩麩氨酸為唯一氮源之葡萄糖培養基上成長後穩定狀態的收穫細胞中分離出。具腺甙醯化作用的中間階段其 GS 由不是高便是低氮源上生長的細胞中獲得，但是在由指數的至恒定相的生長轉變過程中各種時期內收穫的。

總之，已見何以麩醯胺，這種細菌細胞之氮代謝作用的中心化合物，在嚴格控制下具有其合成。調節系統涉及五種酶：(a)GS，(b)AT 酶，(c) PII-A 及 $PII(UMP)_2$ ，(d)UT 酶，以及(e)UR 酶，此等調節事故可能在細胞存在的各種營養條件下精密控制 GS。哺乳類的 GS 偶爾會不具此相同的控制情形。

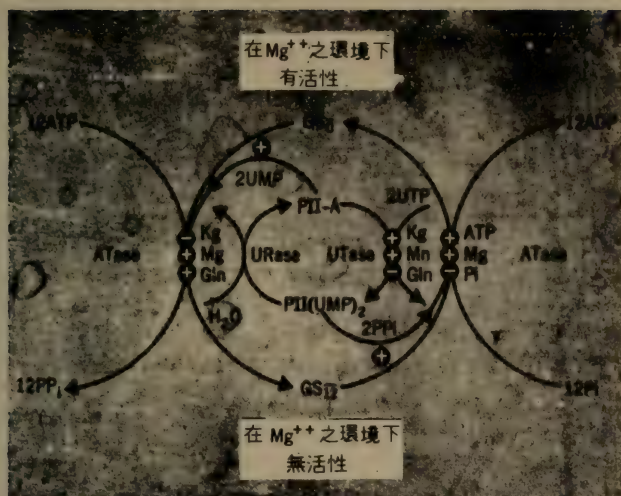


圖 20-4 藉“腺甙醯化作用—脫腺甙醯化作用”及“尿甙醯化作用—脫尿甙醯化作用”轉醯胺有關 ATP 合成酶 (GS) 之調節作用。各種反效的效應子及其效應也包括在內。 kg ，為 α -氧代戊二酸： Mg^{2+} 或 Mn^{2+} ； Gln ，為轉醯胺： PP_i 為焦磷酸， \oplus 激勵： \ominus 抑制，ATase 為腺甙醯基轉移酶；PII 為調節性蛋白質以 PII-A 及 PII(UMP)₂ 而存在；Uase 為尿甙基轉移酶；URase，尿甙基移去酶 (由 Sladzman 所修正，參見本章末之參考文獻)。

20-6 階式系統 (Cascade Systems)

早已討論過此等系統的實例，諸如糖原或腎上腺素在磷酸化酶 (第 10-12 節)，以及脂肪組織之脂酶 (第 13-5 節) 的化學修正上的間接效果。藉腺甙醯化作用合成轉醯胺的控制是另一個階式系統的實例。在此等系統中一系列反應涉及一種酶在若干方式中被活化，作用在另一個上面便導致一原來信號的放大。故有生物化學的放大作用 (biochemical amplification)。例如：一分子的糖原及腎上腺素活化腺甙酸環化酶 (adenylate cyclase)，此酶催化一“第二傳遞者”(second messenger)，環狀 AMP；然後活化一普

通的蛋白質激酶且此物現在活化—特殊激酶，此酶最後修正磷酸化酶。故最初之傳遞者或信號控制此四種酶。若每單位時間內每種酶上發生一百次放大作用，則一分子的起始的傳遞者將有 10^8 倍的效果！

許多控制系統對於一種階式系統的主要功能是基本的。例如磷酸化酶 a (圖 20-5) 在活化的形式中轉變糖原為 1- 磷酸葡萄糖，同時一般的蛋白質激酶磷酸化，且由此使糖原合成酶不活化。故在對立的單向代謝反應上雙重控制是必須的，因另一途徑—代謝短路或一無益之循環會發生，即糖原會被活化的磷酸化酶 a 分裂為 1- 磷酸葡萄糖，及糖原之有關 ATP 合成酶應轉而轉變產物 1- 磷酸 - 葡萄糖返回為糖原，當蛋白質激酶磷酸化時便不是糖原之有關 ATP 合成酶的事實了。

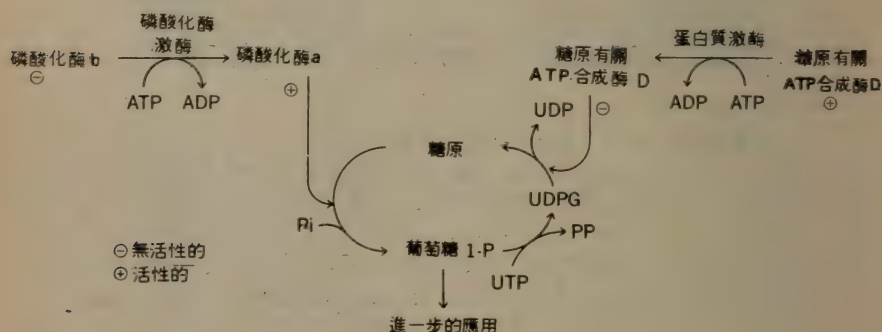


圖 20-5 糖原之分裂及合成間的相互關係。有了磷酸化酶 b → a 之活化作用，便發生糖原有關 ATP 合成酶 I → D 之平行的不活化作用，由此阻止一無益的循環，見第 10-2 節，更深入的討論見第 10-11-2 項。

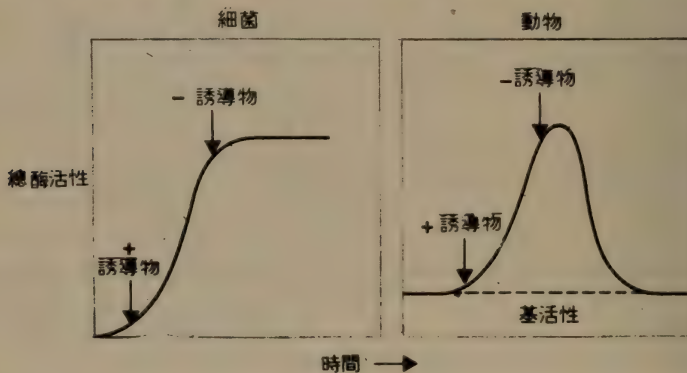
此外，支援酶類 (backup enzymes) 諸如 cAMP 磷酸二酯酶 (phosphodiesterase) 及磷酸蛋白質磷酸解酶 (phospho-protein phosphatase) 均涉及在磷酸化系統中分別移去 cAMP，且脫磷酸化的蛋白質。在 GS 系統中脫腺甙酸反應也有同等效果。

階式系統之一般情形在圖 20-6 中摘要列出。今更詳盡地討論此圖解。除類固醇 (steroids) 外，大多數激素均為蛋白質或聚肽類；並不進入標的

20-7 在酶含量中之適應的變化 (Adaptive Changes in Enzyme Content)

酶原類 (proenzymes) 之轉變為完全活性的酶類，激素原類 (prohormones) 之轉變為激素類，也和酶類及輔酶類之合成及降解一樣均為瞭解代謝程序之調節總圖案中重要的因子。

在准核的及真核的有機體中比較蛋白質 (及酶) 之轉變時此等因子是十分重要的。例如，在細菌中培養基中添加其轉換者時則一特殊酶之總活性增大，且此活性保持恒定縱使此轉換者移去。只有在無此轉換者，且細胞繼續生長時使酶稀釋總酶活性始減小。有一明銳的對比在動物組織中，酶之程度能因激素、受質之作用或營養中之變化而增大。但立刻移去此刺激，酶活性又回至其基活性 (basal activity)。此等結果在說明中已陳示。在動物細胞中有一種蛋白質之連續合成及降解。已為 R. Schoenheimer 氏在四十多年前所記載。這種連續的轉變與依指數成長的細菌細胞中蛋白質之缺乏降解適為尖銳對比。例如在鼠肝臟中蛋白質之取代是迅速的，至少有 50 % 的蛋白質在 4-5 天中取代了。這種轉變是細胞中的，即蛋白質並不排泄，但是在細胞中合成及降解的。此外，在細胞的細胞器蛋白質的降解率中有一個顯著的不同處。例如鼠肝之核蛋白質具五天的半生命，綫粒體蛋白質 6-7 日，及細胞質內網狀結構 2 日。酶類亦有一快速但不同的轉變率。例如，麩氨酸 - 氨基丙酸，氨基轉移酶，有 2-3 日的半生命，過氧化氫酶 (catalase) 30 日，



以及酪氨酸氨基移轉酶 2-4 小時。

在動物組織中決定酶之程度時營養的因子是極為重要的角色。例如在一正常的均衡飲食中，脂肪酸有關ATP合成酶有一基活性程度是易於測出的。但，飲食中換為高脂肪、低碳水化合物時不久，脂肪酸有關ATP之合成酶濃度便部分消失，若飲食中回至正常時，或低-脂肪高碳水化合物飲食，則再於數小時內呈現。這些結果如何解釋呢？有新的證據即在脂肪酸有關ATP合成酶之活性中的不同處是與合成率及降解率在不同營養情況下之均衡有關聯的。故，在飢餓（低活性）及沒有脂肪飼養的鼠（高活性）間每克肝中所含之有關ATP合成酶量有二十倍之差別。此等差別反映出在沒有脂肪飼養鼠（高活性）中有關ATP之合成酶之合成率與飢餓之鼠（低）相較，相差六倍。但，在飢餓鼠中酶錯合體之降解率大四倍，適與無脂肪飼鼠者成對比。用許多酶類在各種不同營養情況下之鼠肝中包括乙醯基-CoA 羧化酶及蘋果酸酶也得相同結果。

許多此型之變化實例能引證在動物組織中營養對於酶活性的影響。瞭解在動物組織中酶及其他蛋白質之合成率及降解率均衡機程，現在是無價值的。

一種有限的機程涉及一不活性的酶原 (zymogens) 轉變為活性酶。大多數形成的消化的酶類均為酶原。若在核酸體中形成的是活性形式，則結果此合成系統自行毀滅。故酶原，均為不活性的，但往往在消化的管道中在其作用的適當部位上轉變為活性的酶。早已討論過胃脲酶原 (pepsinogen) 轉變為胃脲酶 (pepsin)，胰凝乳脲酶原 (chymotrypsinogen)，轉變為胰凝乳脲酶 (chymotrypsin)，胰脲酶原 (trypsinogen) 轉變為胰脲酶 (trypsin)，以及胰島素原 (proinsulin) 轉變為胰島素。此機程是活化作用的一種特殊型式。但，在代謝作用的精密調節中價值有限。

20-8 阻遏及誘導：藉轉寫作用之調節控制酶合成

(Repression and Induction: Control of Enzyme Synthesis by Regulation of Transcription)

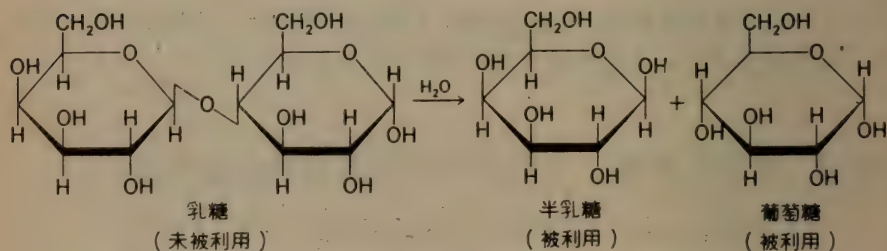
細菌在基本培養基 (minimal medium) 中成長時，則由無機化物及簡單碳源如葡萄糖合成所有生長必需的氮化合物。若生物化學家分裂如此之細

胞且鑑定色氨酸有關ATP之合成酶活性，則易於偵出其存在。但若色氨酸加在此基本培養基中，且若細胞在此等條件下生長，可收獲，且分裂之，然後鑑定此有關ATP合成酶活性，則無法偵測之。故此色氨酸有關ATP之合成酶的合成稱為被阻遏。氨酸、色氨酸，則稱為“輔遏阻物”（corepressor）。此等結果是有“意義”的，因為對於有機體無需合成大量的蛋白質。若色氨酸參與一些蛋白質中確實是有價值的，則小量便可以合成色氨酸有關ATP之合成酶錯合體了。阻遏一辭用以陳述效果的。注意，最後產物，色氨酸，在早期階段中，為了其自身合成便參與酶類合成的封閉工作了。

恰如阻遏藉此順序之一種產物切斷一臨限酶之形成，因此，“誘發”（induction）一辭是有重要意義的，即一酶之合成率能刺激幾十倍之巨。即添加酶之受質於細胞生長的培養中可以完成之。則此受質稱為一種“誘導物”（inducer）而藉誘導物大為刺激的酶稱為一種“可誘發的酶”（inducible enzyme）。

讀者應特別注意阻遏與誘發間之區別。在阻遏中，細胞變緩或中止一化合物之合成，諸如一氨酸對蛋白質合成是必需的。若此氨酸之豐富供應對該細胞是有價值的。另一方面，在誘發中，被誘發的酶對此誘發物之降解是必需的。降解產物，轉而為對細胞之成長為基本碳源。故阻遏與組成代謝程序之控制相關聯而誘發與分解代謝程序之控制亦相關聯。

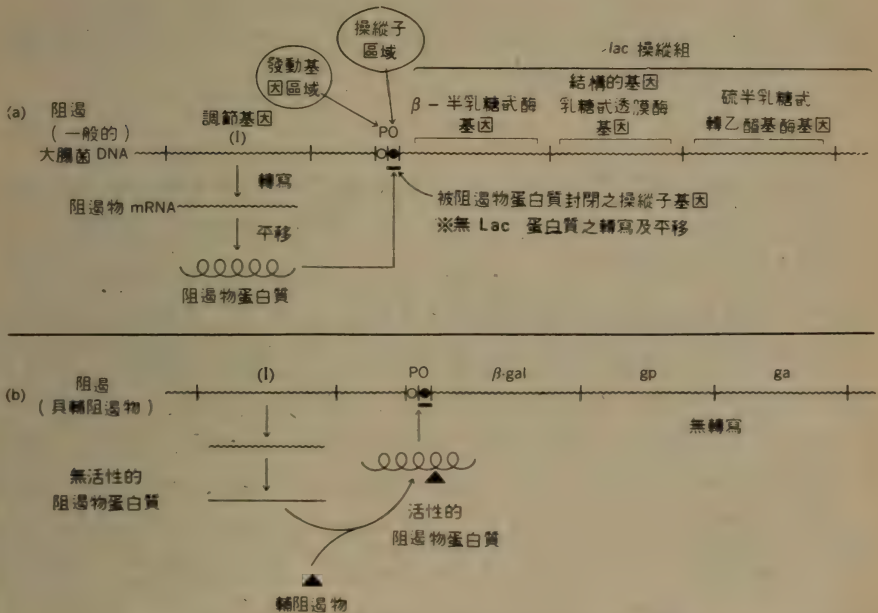
乳糖是誘發化合物之優良實例。可誘發的酶為 β -半乳糖甙酶（ β -galactosidase）；其催化反應為：



大腸菌間接使用乳糖。首先，一半乳糖甙透膜酶（galactoside permease）使乳糖進入細胞必須被誘發；其次， β -半乳糖甙酶水解此二糖為半乳糖及葡萄糖必須被誘發。第三種酶，硫半乳糖甙乙醯基轉移酶（thioga-

lactoside transacetylase) 也被誘發，但其功能尚未知。故當大腸菌在乳糖，做為唯一之碳源，環境中，此等三種酶均在一協調的方式下大量被誘發。誘發之機程如何？此機程已頗為瞭解，且做為對誘發及阻遏之一般觀念之一模式矣。

20-8-1 LAC操縱組 (LAC operon) 在大腸菌DNA對酶做密碼負責使用乳糖的部位稱為乳糖操縱組 (lactose operon (LAC- operon))。操縱組及其調節基因由四種關鍵DNA區域組成：(a)結構的基因，對 mRNA 用做模版，對平移核酸體資料之酶類合成負責，這些酶類與乳糖代謝有關，稱為 β -半乳糖甙酶，半乳糖甙透膜酶，以及硫半乳糖甙乙酰基移轉酶；(b)操縱子基因 (operator- gene) O，鄰接第一結構的基因；(c)發動基因 (promotor) 區域 P，由兩種次區域 (subregions) 組成，稱為 CAP [分解代謝物基因激活體蛋白質 束合部位 (catabolite gene activator protein binding site)] 及 RNA 聚合酶相互作用之部位；即轉而鄰近操縱子基因；及(d)密切聯接調節基因之部位 I。Lac 操縱組之具體情形請參閱圖 20-7 (a)。



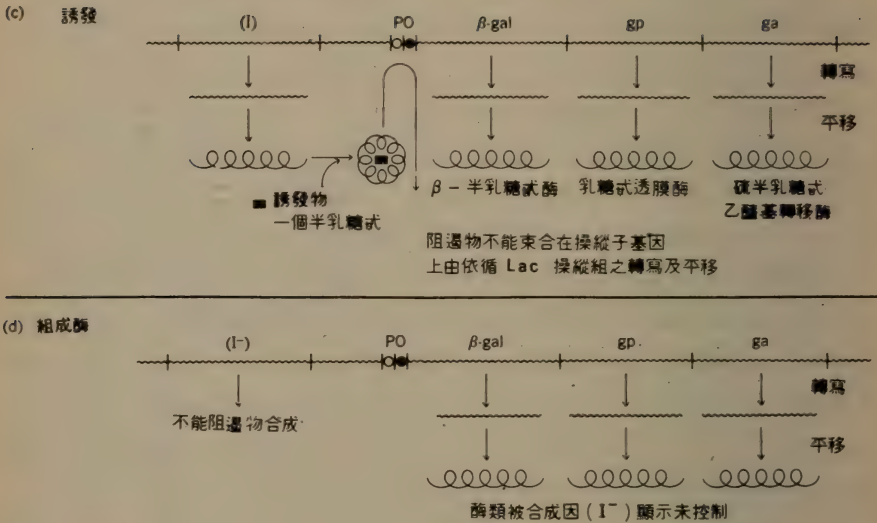


圖 20-7 阻遏，誘發，以及組織性的酶形成模式。I = 野生型 (Wild type) 及 I⁻ = 調節的基因之突變物。詳細情形詳文本。

對於阻遏體 mRNA 的轉寫調節基因製做密碼，爲了形成蛋白質、(半乳糖阻遏體) 乃轉而做爲版模使用。此種蛋白質已經單離且純製之。爲四聚物，分子量 160,000；每個聚合元爲 40,000 mol wt。此種蛋白質有獨特的性質，即其特別結合在稱爲操縱子基因的核式酸順序上，若有一特殊分子，誘發物存在時乃損失了 (見圖 20-7 c)。相信誘發物 (像一個反效效應子) 可改變阻遏物蛋白質的型態，如此則在操縱子部位不發生鍵接作用。在此乳糖或其衍生物之場合是誘發物。若阻遏蛋白質現在不能束合在操縱子部位上，則對於特殊的 mRNA 相鄰結構的基因的轉寫不被封閉，且束合在發動部位的 RNA 聚合酶現在開始 Lac mRNA 的合成。此等 mRNA 被合成於是爲了乳糖代謝乃移入三種酶類中。“輔阻遏物” (Corepressors) 像“誘發物”，均爲小分子的化合物，能轉變不活性的阻遏物蛋白質爲活性的蛋白質，完全能鍵合在其特殊的部位上 (圖 20-7 b)，此等物質包括氨酸諸如色氨酸能迅速被特

效的活化的阻遏物蛋白質將色氨酸有關ATP之合成酶的合成反應停止。最後產物，色氨酸之效應停止全部為合成負責的系列酶類，此效果稱為“最後產物阻遏”（end-product repression）。

若突變發生在調節基因部位上，非官能的阻遏物蛋白質可能形成，而不束合在操縱子部位上。此等突變物稱為組成的突變物（constitutive mutants (I^-)），且酶類合成無視所需，稱為組成酶（constitutive enzymes）（圖 20-7d）。此外操縱子基因之結構能受突變作用；如此則一阻遏物不能束合，而組成酶將被合成此即稱之謂“操縱子-組成突變物”（operator-constitutive mutants）。最後，突變物已陳述該處阻遏體蛋白質能在操縱子部位緊密束合；但因誘發物之束合部位在阻遏體蛋白質者已失去因調節基因（ I^- ）之突變作用不能發生誘發作用。此等突變物稱為“超阻遏突變物”（superrepressed mutants）。

總之，操縱者之轉寫乃負性的控制。負性的控制為Lac阻遏體蛋白質之居間性。此蛋白質特別與O部位密切的束合，故妨止轉寫。在O或在I基因中之突變作用結果造成酶的組成合成，而不具轉寫的控制。但，正性的控制能藉一種稱為“分解代謝產物阻遏”（catabolite repression）所發揮之。見圖 20-8。

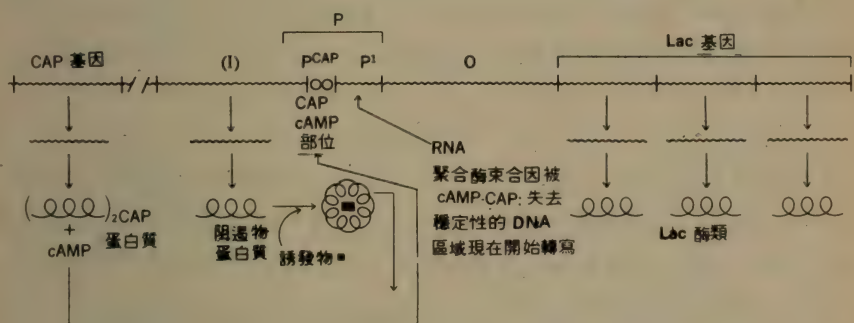


圖 20-8 因 cAMP，分解代謝物質基因活化體蛋白質（CAP）阻遏物，以及誘發物的系統，在 Lac 操縱組之正性控制中分解代謝物阻遏作用。

20-9 分解代謝產物阻遏 (Catabolite Repression)

一般言之，當碳化合物在培養基中是唯一的碳源時細菌只為使用一種特殊的碳化合物來製造所需要的酶類，例如，大腸菌並非正常地代謝乳糖，而對其代謝作用負責的酶類稱為半乳糖透膜酶，及 β - 半乳糖貳酶二者均消失。加乳糖僅為碳源，乃使大量的此等酶合成了。但若加葡萄糖於此懸浮液時，所用之乳糖乃驟然削減，因對此應用所必需之此等酶類其合成被驟然地阻遏了。此效應稱為“代謝產物阻遏”。一般言之，涉及變更能源之不同應用的酶類可能屬於此型的控制。

解釋此現象並非一蹴可即的，直至觀察了大腸菌含有環狀 AMP [cyclic (cAMP)]；cAMP，且察見葡萄糖使此核貳酸之濃度降低，為迅速才實現的。加 cAMP 於乳糖降解酶類被葡萄糖阻遏之則培養基上，則迅速克服此阻遏作用。只有 cAMP 而無其他腺貳核貳酸才證明是有效的。所以，阻遏作用是多少與降低 cAMP 濃度有關的。cAMP 效果是一般性的，因所有屬於葡萄糖阻遏作用的酶類之合成均被 cAMP 所刺激。此等酶類涉及碳水化合物之輸送及代謝作用，氨酸代謝作用，以及嘧啶代謝作用。不屬於葡萄糖阻遏之酶類諸如色氨酸有關 ATP 之合成酶及鹼性磷酸解酶均對 cAMP 之脫阻遏作用不敏感。

支持 cAMP 任務的另外證據是由單離大腸菌的突變物所提供的，這突變物在合成 cAMP 的腺貳酸環化酶 (adenylate cyclase) 中是有缺陷的：



如此突變物不含 cAMP，且不能在乳糖上生長，而糖量增加除非添加 cAMP，故正常的誘發作用受糖類影響得以證明。雖然還不清楚葡萄糖如何調節細胞中之 cAMP 之量，但有證據知道葡萄糖易於由細胞分泌核貳酸。無論如何，在細胞中葡萄糖能在調節 cAMP 濃度方面負責任的。現在對於 cAMP 本身在可誘發的酶類刺激上所負的任務有了合理的解釋。(圖 20-8)。

早已注意 (第 20-8-1 項)，促發的部位 (promotor site) 可分成兩個官能部位：CAP 相互作用部位及 RNA 聚合酶部位。CAP 蛋白質是一種二聚物由兩個相同的次單位組成，每個分子量為 22,000。在若干方式中，cAMP 乃是束合在此二聚物上，CAP 轉而在誘發部位的 DNA 範圍上與一特殊部位強

烈結合。此結合的錯合體在若干方式中使一鄰近的DNA雙股產生一開放性錯合體而不安定。現在RNA聚合酶能與此部位結合，且開始轉寫。缺乏葡萄糖時，在細胞中則cAMP濃度高，cAMP結合在其特殊蛋白質CAP上，此物轉而與DNA範圍結合，而容易進入RNA聚合酶，且繼續轉寫。當葡萄糖存在時，cAMP降至更低的程度，CAP為不活性的，且RNA聚合酶結合嚴重的削弱。故轉寫的控制能被cAMP, CAP, 正性調節蛋白質，及阻遏物，負性調節蛋白質之作用而仔細地調整之。至於阻遏物蛋白質之觀念顯示為一種普遍性質，現在的知識還不能使我們說CAP蛋白質調和是為此普遍。

20-10 結 論

已知藉酶類之分區，藉一些不同型式之反饋控制代謝作用各種途徑；藉酶類之化學的調整；涉及階式系統；藉酶類之解脛的調整；藉阻遏作用；以及誘發作用；在代謝的途徑中酶類能維持精密的程度，如此則受質或中間物能轉而掌握生理的適當濃度。至於誘發性對於分解代謝的酶順序——外生受質之降解——是一種法則，阻遏性則對於組成代謝的順序——涉及氨基酸及核甙酸的合成——又是一種法則。阻遏及誘發二者均高度特效的，但誘發物為順序之變質，而輔阻遏物則為順序的產物。

參 考 文 獻

1. E. R. Stadtman, in *The Enzymes*, P. D. Boyer, ed. 3rd ed., vol. 1. New York: Academic Press, 1970, p. 397; vol. X, 1974, p. 755.
2. G. N. Cohen, *The Regulation of Cell Metabolism*. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1968.
3. *Annual Review of Biochemistry*, Esmond E. Snell, ed. Palo Alto: Annual Reviews, Inc.

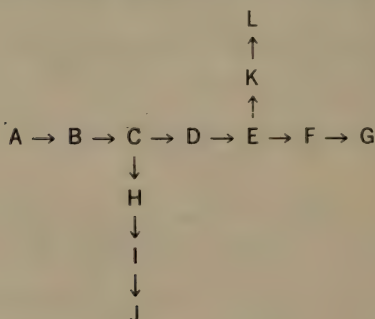
在這些年刊中，專家在這方面的流行的評論應加參攷。

4. E. A. Newsholme and C. Start, *Regulation in Metabolism*. New York: Wiley, 1973.

有關碳水化合物及脂質代謝作用中控制之現在觀念，有清晰的撰寫。

習 題

1. 在(a)累積的，(b)協調的，以及(c)合作的反饋抑制間訂定其區別，並舉實例。
2. 描寫如下各項名辭：
 - (a) 反饋抑制 (又稱回生禁制)
 - (b) 酶誘發作用
 - (c) 酶阻遏作用
 - (d) 產物抑制
 用於控制一代謝程序此等中為何種？
3. 在如下之多支途徑中，A為最後產物L, G, 及J, 之先質。描述似乎合理的機程使一生命的細胞能獨立調節三種最後產物之生物合成率



4. 在一代謝的順序之控制中一階式系統之價值如何？試舉一實例且解釋在此程序中一階式系統之需要性。

附錄 I

緩衝液及 pH 問題

Buffer and pH Problems

A-1.1 二次方程式之求解 (Solution of Quadratic Equations)

在第一章中，求解二次方程式 1-30 可參考此附錄，其方程式為：

$$\frac{x^2}{1-x} = 1.8 \times 10^{-5}$$

整理後得

$$x^2 = (1.8 \times 10^{-5})(1-x)$$

$$x^2 = (1.8 \times 10^{-5}) - (1.8 \times 10^{-5})x$$

$$x^2 + (1.8 \times 10^{-5})x - (1.8 \times 10^{-5}) = 0$$

此式為 $ax^2 + bx + c = 0$ 之形式，其中

$$a = 1$$

$$b = 1.8 \times 10^{-5}$$

$$c = -1.8 \times 10^{-5}$$

解此二次方程式得：

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

代入 a, b, c, 各值：

$$x = \frac{-(1.8 \times 10^{-5}) \pm \sqrt{(1.8 \times 10^{-5})^2 - 4(-1.8 \times 10^{-5})}}{2}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{-(1.8 \times 10^{-5}) \pm \sqrt{3.24 \times 10^{-10} + 7.2 \times 10^{-5}}}{2} \\
&= \frac{-(1.8 \times 10^{-5}) \pm \sqrt{72 \times 10^{-6}}}{2} \\
&= \frac{-1.8 \times 10^{-5} \pm 8.48 \times 10^{-3}}{2} \\
&= +4.231 \times 10^{-3} \quad \text{或} \\
&\quad -4.249 \times 10^{-3}
\end{aligned}$$

因問題中 x 爲氫離子濃度 $[H^+]$ ，僅可取其正值，故正值爲適用的。
故有

$$[H^+] = 4.23 \times 10^{-3} \text{ 莫耳 / 升}$$

A-1.2 對數之溫習 (Review of Logarithms)

有兩種系統的對數：一爲自然對數，或稱Naperian 對數，以 e 爲底，一爲更普通之系統稱爲常用對數以 10 爲底。任一數 a 以 e 或 10 爲底數之對數（分別稱 x 或 y ）乃 $e^x = a$ ，或 $10^y = a$ ，可寫做

$$\begin{aligned}
x &= \log_e a & y &= \log_{10} a \\
&= \ln a
\end{aligned}$$

此二系統對數之關係爲

$$x = \log_e a = 2.303 \log_{10} a = 2.303y$$

本書所用之對數幾均爲 10 爲底之對數，例如：

$$\begin{aligned}
\log 10 &= 1 \\
\log 100 &= \log 10^2 = 2 \\
\log 1000 &= \log 10^3 = 3 \\
\log 0.001 &= \log 10^{-3} = -3 \\
\log 1 &= 0
\end{aligned}$$

對 1 及 10 之間可由計算尺求算，例如

$$\log 2 = 0.301$$

$$\log 3 = 0.477$$

$$\log 6 = 0.778$$

$$\log 7 = 0.845$$

讀者應嫻熟對數之運算，例如對數計算，乘算乃相加，除算乃相減。例如：

$$4 \times 6 = 24$$

$$\begin{aligned}\log 24 &= \log 4 + \log 6 \\ &= 0.602 + 0.778 \\ &= 1.380\end{aligned}$$

檢算之：

$$\begin{aligned}\log 24 &= \log (10 \times 2.4) \\ &= \log 10 + \log 2.4 \\ &= 1.0 + 0.380 \\ &= 1.380\end{aligned}$$

在 pH 問題中有兩種運算常使用。例如 $[H^+]$ 爲：

$$[H^+] = 3 \times 10^{-4} \text{ 莫耳 / 升}$$

求算 pH：

$$\begin{aligned}\text{pH} &= \log \frac{1}{[H^+]} = -\log [H^+] \\ &= -\log (3 \times 10^{-4}) \\ &= -\log 3 - \log 10^{-4} \\ &= -0.477 - (-4) \\ &= 3.523\end{aligned}$$

另一常用之運算爲由已知之 pH 求算 $[H^+]$ ；例如求計一溶液之 $[H^+]$ ，其 pH 值爲 9.26：

$$\begin{aligned}\text{pH} &= 9.26 \\ [H^+] &= \text{antilog } -9.26 \\ &= \text{antilog } (-10 + 0.74) \\ &= 10^{-10} \times 5.5 \\ &= 5.5 \times 10^{-10} \text{ 莫耳 / 升}\end{aligned}$$

A-1.3 pH 問題 (pH Problems)

1. 求計如下各 $[H^+]$ 之 pH 值：

$10^{-4}M[H^+]$	答： 4.00
$7 \times 10^{-5}M[H^+]$	4.16
$5 \times 10^{-8}M[H^+]$	7.30
$3 \times 10^{-11}M[H^+]$	10.52

2. 求計如下各 pH 值之 $[H^+]$ ：

pH	答：
2.73	$1.86 \times 10^{-3}M[H^+]$
5.29	$5.13 \times 10^{-6}M[H^+]$
8.65	$2.24 \times 10^{-9}M[H^+]$
11.12	$7.59 \times 10^{-12}M[H^+]$

化學計量的問題 (a) 濃 H_2SO_4 含 96 % H_2SO_4 ，比重為 1.84。求算用以製取 750 ml 之 $1N H_2SO_4$ 需此 H_2SO_4 若干量。

答：此濃 H_2SO_4 1 升重 1840 g，含 1840×0.96 或 1760 g 之 H_2SO_4 。1 升濃 H_2SO_4 故為 1760/98 或 18 克分子 (18 M)。因 H_2SO_4 為二質子酸每莫耳之 H_2SO_4 產生 2 莫耳質子，濃 H_2SO_4 為 36 規定溶液 (36 N)，750 ml 之 $1N H_2SO_4$ 含 0.75 當量式 750 meq，故 750/36 或 20.8 ml 之 H_2SO_4 將含有 750 meq。若 20.8 ml 之濃 H_2SO_4 以水稀釋為 750 ml 則此溶液即為 1N。

(b) 濃 HCl 以重量計為 37.5 % HCl，其比重為 1.19 試述如何配製 500 ml 之 0.2 N HCl

答：稀釋 8.18 ml 之濃 HCl 於 500 ml H_2O 中。

(c) 冰醋酸為 100 % 的 CH_3COOH ，比重為 1.05 試述如何配製 300 ml 之 0.5 N CH_3COOH

答：稀釋 8.6 ml 冰醋酸於 300 ml H_2O 中。

(d) 在 100 ml 之 0.1 N NaOH 中加 150 ml 之 0.2 M HCl 求此最終溶液的 $[H^+]$ 。

答：0.08 M。

(e) 在 100 ml 之 0.1N NaOH 加 150 ml 之 0.2 M H_2SO_4 ，求此最終溶液中之 $[\text{H}^+]$ 。

答：0.2 N。

緩衝液問題 (Buffer Problems)

(a) 在 100 ml 之 0.1 M NaOH 中加 150 ml 之 0.2 M CH_3COOH ($K_a = 1.8 \times 10^{-5}$)。求計此最終溶液的 pH。150 ml 之 0.2 M CH_3COOH 含 0.03 莫耳之 CH_3COOH 。同樣，100 ml 之 0.1 M NaOH 含 0.01 莫耳之 NaOH。當此二者相混時 0.01 莫耳之 NaOH 將中和一等量之 CH_3COOH 而成為 0.01 莫耳之醋酸鈉；0.02 莫耳之 CH_3COOH 仍留存。各質均在 250 ml 之容積中。則 pH 值可由 Henderson-Hasselbalch 方程式求解得之，

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{共軛 Brönsted 鹼}]}{[\text{Brönsted 酸}]}$$

首先求計 $\text{p}K_a$

$$\begin{aligned}\text{p}K_a &= -\log 1.8 \times 10^{-5} \\ &= -\log 1.8 - \log 10^{-5} \\ &= -0.26 + 5 \\ &= 4.74\end{aligned}$$

故

$$\begin{aligned}\text{pH} &= 4.74 + \log \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} \\ &= 4.74 + \log \frac{(0.01/250)}{(0.02/250)}\end{aligned}$$

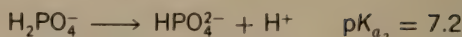
但注意此容積 250 ml 中含有醋酸根離子及醋酸在分子及分母處，故最後簡化為：

$$\begin{aligned}\text{pH} &= 4.74 + \log \frac{1}{2} \\ &= 4.74 - \log 2 \\ &= 4.74 - 0.30 \\ &= 4.44\end{aligned}$$

(b) 對 H_3PO_4 之 $\text{p}K_a$ 有 $\text{p}K_{a_1} = 2.1$; $\text{p}K_{a_2} = 7.2$; $\text{p}K_{a_3} = 12.7$ ，試述如何配製一磷酸緩衝溶液 pH 6.7，開始以 0.1 M H_3PO_4 溶液及 0.1 M

NaOH 。

答：第二解離之磷酸將為緩衝物系



共軛鹼 (HPO_4^{2-}) 與 Bronsted 酸 (H_2PO_4^-) 之比值可由 Henderson-Hasselbalch 方程式求計之。

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{p}K_{a_2} + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \\ 6.7 &= 7.2 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \\ -0.5 &= \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} \\ 0.5 &= \log \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{HPO}_4^{2-}]} \\ \text{比率} \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{HPO}_4^{2-}]} &= \text{antilog } 0.5 \\ \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}{[\text{HPO}_4^{2-}]} &= \frac{3.16}{1} \end{aligned}$$

在此緩衝液中將有 316 份之 H_2PO_4^- 及 100 份之 HPO_4^{2-} 而總量為 416。因所有磷酸鹽緩衝劑成分必須來自 0.1 M H_3PO_4 ，開始取用 41.6 ml 之 0.1 M H_3PO_4 及加入 41.6 ml 之 0.1 N NaOH 以中和第一個質子，其解離度在 $\text{p}K_{a_1} = 2.1$ 。故加 10.0 ml 量鹼以產生 1.0 當量之 HPO_4^{2-} 及移出 3.16 meq 之 H_2PO_4^- 。此即得所企之比率 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ ，且因此有一 pH 為 6.7。此緩衝劑濃度將等於 meq 之 H_3PO_4 (4.16) 除以最後之溶液的毫升數 (93.2) 或 0.045 M。

(c) 開始以 1M H_3PO_4 及 1M NaOH 配製 100 ml 之 0.1 M 磷酸鹽緩衝劑 pH 為 6.7。

答：必須先得與前 $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ 之相同比值為 3.16。欲配製 100 ml 之 0.1 M 磷酸鹽緩衝劑先製 10 ml 之 1 M H_3PO_4 。然後加 10 ml 之 1 M NaOH 以中和解離之第一個質子。於是得所需比值，加 $10 \times 1/4.16$ 或 2.4 ml 且加水稀釋為最終之 100 ml。

A-1.4 習 題 (Problems)

1. 3.48 g 之 K_2HPO_4 及 2.72 g 之 KH_2PO_4 均溶於 250 ml 水中則此緩衝溶液之 pH 及濃度為若干？

答：pH = 7.2 濃度為 0.16 M

2. 一緩衝溶液含有 0.1 M CH_3COOH 及 0.1 M 醋酸鈉（此即 - 0.2 M 醋酸塩緩衝劑）。求計在加入 4 ml 之 0.025 N HCl 至 10 ml 之此緩衝溶液之 pH 已知醋酸之 pK_a 為 4.74。

答：pH = 4.65

3. 試述如何以 0.1 M NaOH 及 0.1 M 麩酸 ($pK_{a_1} = 4.32$; $pK_{a_2} = 5.54$) 配製 pH 4.2 之一麩酸緩衝溶液。

答：加 100 ml NaOH 於 232 ml 之麩酸或任何同等之酸及鹼之比例。

4. 吡啶為一共軛鹼與 H^+ 化合而成吡啶氯化氫 (pyridine hydrochloride)，此化合物水解產生 $[H^+]$ 其 pK_a 為 5.36。試述如何配製 pH 5.2 之緩衝液開始用 0.1 M 吡 及 0.1 M HCl。

答：加 14.5 ml 之 0.1 M HCl 在 24.5 ml 之 0.1 M 吡啶中。

5. 試述如何配製 pH 9.0 之 1 升之 0.1 M 氯化銨緩衝液。開始用固體氯化銨 ($pK_a = 9.26$) 及 1 M NaOH。

答：溶解 5.35 g NH_4Cl 在約 500 ml H_2O 中再加 35.5 ml 之 1 M NaOH 然後稀釋至 1 升。

6. 試述如何配製 pH 9.0 之 1 升之 0.1 M NH_4Cl 緩衝液，開始用 1 M NH_4OH 及 1 M HCl。

答：加 64.5 ml 之 1 M HCl 在 100 ml 之 1.0 M NH_4OH 中，再稀釋為 1 升。

7. 多少容積的冰醋酸及多少重量的三分子結晶水的醋酸鈉 ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) 可製成 pH 4.5 之 100 ml 0.2 M 緩衝液 (醋酸之 pK_a 為 4.74)

答：0.725 ml 冰醋酸及 0.993 $CH_3COONa \cdot 3H_2O$

8. 多少重量之碳酸鈉 (Na_2CO_3) 及小蘇打 ($NaHCO_3$) 可製成 pH 10.7 之 500 ml 之 0.2 M 緩衝液？ (H_2CO_3 之 pK_{a_1} 為 6.1。 $pK_{a_2} = 10.3$)

答：7.58 克之 Na_2CO_3 及 2.40 克 $NaHCO_3$

9. 多少容積之濃 HCl 及多少重量之三-(羥基甲基)-氨基甲烷 (tri-hydroxy-methyl-amino-methane) 此乃一鹼可配製得 pH 8.0 之 100 ml 之 0.25 M 緩衝液? (已知三-氯酸鹽之 pK_a 為 8.0)

答: 3.025 克鹼及 1.025 ml 之濃 HCl

10. 試述如何配製 pH 7.2 之 250 ml 之 0.6 M 三-乙醇氨 (triethanol amine) 緩衝液, 所用試藥為自由氨及濃 HCl (此氨之鹽酸鹽的 $pK_a = 7.8$)

答: 溶解 22.4 g 氨於約 100 ml H_2O 中然後加 9.85 ml HCl。再稀釋成 250 ml。

11. (a) 多少重量的甘氨酸 ($pK_{a_1} = 2.4$; $pK_{a_2} = 9.6$) 及多少容積之 1 N HCl 可配製 pH 2.4 之 100 ml 的 0.3 M 緩衝液? (b) 多少重量之甘氨酸及多少容積之 1 N NaOH 可配製 pH 9.3 之 100 ml 之 0.3 M 緩衝液?

答: (a) 2.25 g 之甘氨酸及 15 ml 之 1 N HCl

(b) 2.25 g 之甘氨酸及 10 ml 之 1 N NaOH

12. 一酶之催化反應乃發生於一溶液中, 該溶液含有 0.2 M Tris 緩衝液 ($pK_a = 8.0$)。此混合反應在開始時之 pH 為 7.7, 在反應過程中 0.333 莫耳/升之 H^+ 被消耗, (注意用 H^+ 離子有相同效應在緩衝液上亦產生當量的 OH^- 離子)。(a) Tris (自由鹼) 及 Tris 鹽酸鹽 (酸式) 之比值在開始反應時為若干? (b) 反應終了時 Tris/TrisHCl 又若干? (c) 最後混合反應之 pH 為若干?

答: (a) 0.5; (b) 1.0; (c) pH 8.0

附 錄 II

生物化學之實驗法

Methods in Biochemistry

A-2.1 目 標 (Purpose)

在生物化學研究上所用之若干技術已蒐集在此附錄 II 中，並非做為實驗室之指南，但要求讀者視此方法及詞彙成為實驗生物化學家之術語而已。

A-2.2 玻璃電極 (Glass Electrode)

測定一生物系統之 pH 值其最有效之適當方法為使用玻璃電極 (glass electrode) 之 pH 計 (pH meter)。外基準電極電位 ($E_{\text{基準}}$) 與玻璃電位 (E_g) 對 pH 之關係如下：

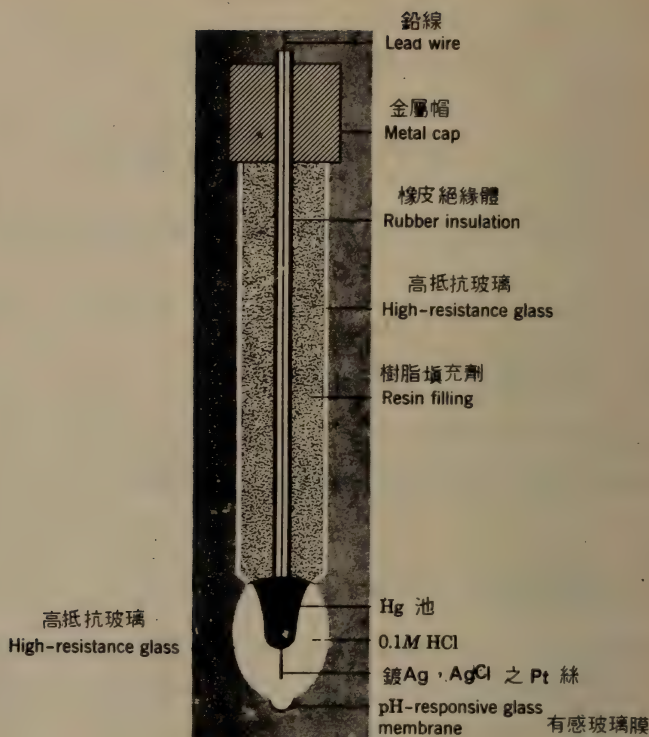
$$\text{pH} = \frac{E_g - E_{\text{基準}}}{0.0591} \quad \text{在 } 25^\circ\text{C}$$

此典型的玻璃電極其裝置方式如下：

	玻璃膜		溶液	
Ag, AgCl(s), HCl(0.1M)	Glass membrane	Solution X	KCl(Sat), Hg ₂ Cl ₂ (s), Hg	
銀-氯化銀電極			甘汞半電池	
Silver-Silver chloride electrode			Calomel half-cell	

當兩個不同 H^+ 離子濃度之溶液以一薄的玻璃膜分隔時，使得該兩溶液 pH 不同關係下之電位差。一典型的玻璃電極如圖 A-2-1 所示。

電位差 ($E_g - E_{\text{基準}}$) 可用電位計型 pH 計 (potentiometer-type pH meter) 或一直讀型 pH 計 (direct-reading pH meter) 仔細測定之。正常用負反饋原理 (negative feedback principle) 之簡單三極管增幅器。



圖A-2-1 一典型玻璃電極之組合。

無論所測電位差為如何，讀者應注意所得結果為活動度 (a_H) (activity) 而非氫離子之濃度 $[H^+]$ 也。除非用特殊玻璃膜其 pH 範圍在 1-11 之間正確，而前後各值之誤差便見顯着，而務須加以更正。玻璃電極應在每次測定 pH 後仔細洗淨，尤其在測定蛋白質溶液之後，因蛋白質可吸附在玻璃表面而致發生嚴重誤差。一非水溶液可與玻璃膜因在電位差內之變化而發生部分水解作用，亦導致有誤差。弱緩衝溶液應在測定中不停的攪拌因溶液之薄層在玻璃上之溶液界面不能反映靜態溶液之真正活動度。亦應注意在有機溶液酸之解離降低，故 pH 上升。讀者應注意此等因素，除此以外玻璃電極 pH 計確為優良工具，因為極為靈敏且安定之儀器也。

A-2.3 同位素方法 (Isotopic Methods)

在生物化學中最簡單而重要的技術即此精密，仔細使用放射性及安定的同位素方法。

A-2.3.1 放射性同位素 (Radioisotopes) 依生物化學之觀點言，最有用的放射性同位素 (radioisotopes) 為 ^{14}C , ^{35}S , ^{32}P 及 ^3H 均為 β 射線放射體；即謂此等原子蛻變生成物之一為一電子，且以該蛻變核之特性能量運動。所謂 β - 射線與分子間之反應乃在穿過此分子時發生分子之解離作用，受激作用，或游離作用。所得結果之游離性質可用以定量地測定所呈放射性同位素之量。若干有用放射性同位素性質見表 A-2-1。

單位 1 居禮 (curie) 為一量之放射體能有 3.7×10^{10} 蛻變數/秒 (disintegrations/sec, dps)，更通用的單位為毫居禮 (millicurie) mc (10^{-3}curie) 及一微居禮 (microcurie) μc (10^{-6}curie)。

表 A-2-1

若干有用放射性同位素性質

元 素	放射性	半衰期	輻射能 (meV) ^a
^3H	β^-	12.1 年	0.0185
^{14}C	β^-	5100 年	0.156
^{32}P	β^-	14.3 日	1.71
^{35}S	β^-	87.1 日	0.169

$\text{MeV} = 1$ 百萬電子-伏特 (Electron-volt)

比放射性 (specific activity) 一質每分鐘每單位物質之放射能 (mg , μmole 等等)。

稀釋度 (dilution factor) 其定義為：

$$\frac{\text{標入之先質比放射性}}{\text{單離的化合物之比放射性}}$$

此稀釋度常用於表示先質化合物與生化合成之第二化合物間之關係。故在廣續的 $\text{A} \rightarrow \text{B} \rightarrow \text{C} \rightarrow \text{D}$ 中，對 $\text{C} \rightarrow \text{D}$ ，稀釋度小，而對 A 大。故小稀釋度因素應指示標入組織中之化合物 C 對最終產物較對具有高稀釋度因素之化合物更有一優良先質的關係。

放射性進入之百分率 亦用於比較生物合成中先質與第二化合物間之關係。若標識之化合物A供應一實驗系中且有若干放射性進入化合物D中,則進入之百分率以化合物D之居禮(或微居禮)除以化合物A之居禮(或微居禮)' $\times 100$ 即 $[D\text{-}Ci/A\text{-}Ci \times 100]$ 表示之。

測定法: 液體閃爍計 (liquid scintillation counting) 或者是測定放射性同位素最通俗的技術了。此技術基於使用含有氚的一種閃爍溶液及一光電倍增管 (multiplier phototube)。閃爍溶液轉變放射性粒子之能量為光, 光電倍增管受此光之反響產生一電荷, 此電荷能擴大倍增且以一電流標度計數之。

在液體閃爍計數計中, 放射性物質往往溶入一含氚之適當有機質中。另外, 放射性試樣能造成含有試樣的濾紙懸浮或乳化為閃爍流體。在此等情況下, 放射性粒子之能量首先被傳遞至溶劑分子中, 然後此物能游離或變成受激的。它是溶劑的電子的受激能量, 乃傳遞至氚(溶質)中。當受激之溶質分子再回至其基態 (ground state) 則放射出光之量子, 而被光電管偵測出來。

與此技術相關的問題是試樣中之有色質熄滅此射出的光。此外若有外來之質在其做光的形式放出前吸收刺激之能, 氚分子可能被熄滅。測定被放射性試樣呈現的熄滅量有許多有效方法。

閃爍計數器對於測定氚 (tritium) 3H , 及 C-14 之弱 β 特別有用。計數此等粒子的效率可分別高達 50 至 85 %。

A-2.3.2 安定同位素 (Stable Isotopes) 生物學重要元素的若干安定同位素均適於濃集, 而用以標識化合物。例如氘 (deuterium), 質量為 2 之氫原子, 在水中僅含 0.02 % 之量, 自然其餘均為質量 1 的氫。可以製得“重水” (heavy water), 其中有 99.9 % 的氫原子為氘。重的同位素濃度往往做為原子百分率過量數 (atom percent excess), 即此正常豐瘠量以外之過剩同位素量。故氮有兩種安定同位素為 ^{14}N 及 ^{15}N 。其正常豐瘠量分別為 99.62 及 0.38 %。若氮之樣品中含有 4 % 之 ^{15}N (及 96.00 % ^{14}N), 則 ^{15}N 此樣品中之濃度為 3.62 原子百分率過剩量。其他安定同位素有相當豐富之濃度者, 可用為生物化學的示跡劑 (tracer) 如 ^{17}O , ^{18}O , ^{13}C , ^{33}S , 及 ^{34}S 此等同位素之正常豐瘠量可在任何化學手冊中查出。

使用安定同位素之基本原則與使用放射性同位素者相同, 但安定同位素

則以質譜儀 (mass spectrometer) 爲定量的測定。討論不同型式的光譜儀在參考文獻中可查得。發展光譜儀之前，屈折率 (refractive index)、密度 (density) 及熱傳導 (thermal conductivity) 對安定同位素濃度之定量測定均有價值。

A-2.3.3 同位素之使用 (Uses of Isotopes) 已發展無數研究生物化學反應之技術。已有數百種商用生物化學品用各種同位素標識在已知之部位上俾用於近代研究，本書中已有許多實例陳述矣。有若干注意之點應指出，最重要的是同位素效應影響反應之速率。因原子量之不同，故反應速率有輕微變化。用氚 (tritium) ^3_1H ，反應速率影響甚大，且對 $\text{C}-^3_1\text{H}$ 鍵之斷裂速率爲 $\text{C}-^1_1\text{H}$ 之 $1/20$ 倍。氘 (^2_1H) 之反應速率則約爲 $1/6$ 倍。 $^{12}\text{C}-^{14}\text{C}$ 之斷裂速率效應小。故爲速率限制之步驟。

亦應注意氘及氚之鍵合如 $\text{N}-^3_1\text{H}$ 及 $\text{O}-^3_1\text{H}$ 在溶劑，($^3_1\text{H}_2\text{O}$)，中極迅速轉換，故可洗出。在醋酸中以 ^3_1H 標識之，將可立即洗滌，因在水中，正常質子經游離而大量交換。再者，所有用於計數的化合物必須仔細純製；其他技術可用相當的非放射性物質“洗出”法而移去任何污染之放射性同位素物質。故 $\text{CH}_3\text{C}^*\text{OOH}$ (即羧基有標識之醋酸) 可由所企化合物添加大量正常 (^{12}C) 之醋酸而迅即移出，即正常醋酸能與之相混且大爲稀釋此污染之 C^* 醋酸。其他有用之規範乃純製至恒定的比放射性。

A-2.4 分光光度測定法 (Spectrophotometry)

此技術在生物化學研究上十分重要。有三種常用的方法：(1) 若化合物對某波長之吸光率 a_s (absorbancy index) 已知則該化合物之濃度由測定該波長之光密度迅即決定之。在核甙酸中其 a_s 之值甚大，故微量之此種吸收質 ($2-4 \mu\text{g}$) 均可正確測出。(2) 在反應過程中，可測定光 - 吸收的化合物之生成速率或消失速率。故 NADH 吸收性在 $340 \text{ m}\mu$ 最強，而氧化型的 (NAD^+) 則在此波長不吸收。故反應之涉及生產及使用 NADH 或 (NADPH) 者可援用此技術。(3) 化合物之鑑定可由測定其對紫外線及可見光範圍光線之特性吸收光譜而決定之。

分光分析與二重要定律有密切關係，即 Lambert 定律 (Lambert's law) 及 Beer 定律 (Beer's law)。Lambert 定律陳述光吸收直接比

例於被分析溶液之“厚度”(thickness)。

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = a_s b$$

其中 I_0 為入射光強度, I 的透過光強度, a_s 為溶液特有吸光率, b 為溶液之長度或厚度, 及 A 為吸光度。

Beer 定律陳述光吸收直接比例於溶液中“溶質之濃度”

$$\log_{10} \frac{I_0}{I} = a_s c$$

而 Lambert-Beer 聯合律為: $\log_{10} I_0/I = a_s bc$ 。

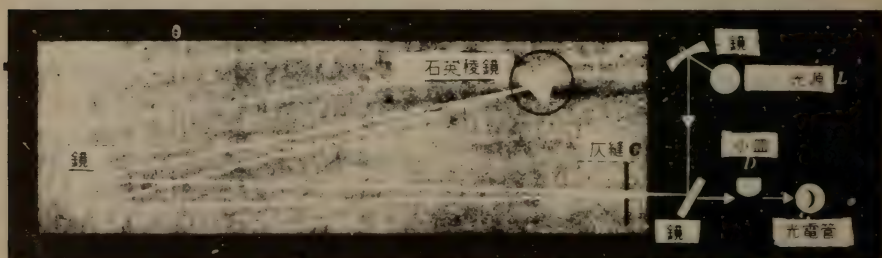
若 b 用一標準電池保持恒定, 於是 Lambert-Beer 定律成為:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = a_s c$$

吸光率 a_s , 被定義為 A/Cb 此處 C 為每升中該質以克計之濃度, b 為光線穿過溶液之長度以 cm 計。莫耳吸光度 a_m 等於 a_s , 乘以該質之分子量之值。

所有分光分析儀有如下之主要部分:

- (1) 輻射能源 (L)
- (2) 單色光裝置, 乃一單離之單色光或狹光帶輻射能 Beckmann 分光分析儀為一典型儀器, 如下圖解 A-2.1 所示:



圖解 A-2.1

其結構為有一光柵或稜鏡 B , 用以分散輻射能至光譜中, 然後經灰縫 C 。選定光譜之一灰小部分。小皿 D 置光小室中。入射光射至小皿, 透過之光穿入光電池中, 然後將此穿過之光能轉變為電能而測定之。

若干重要生物化學質之莫耳吸光度為:

物質	λ_{\max} (nm)	$a_m \times 10^{-3}$
NADH	340	6.22
ATP	260	15.4
NADPH	340	6.22
FAD	445, 366	11.3 (在 445 nm)
乙醯基-N-乙醯基半胱氨酸氨	232	4.6

例如依據 NADH 之 a_{m340} ，0.1 μ 莫耳之 NADH 溶在 3.0ml 容積中而光線穿過 1 cm，則其光學密度為 0.207

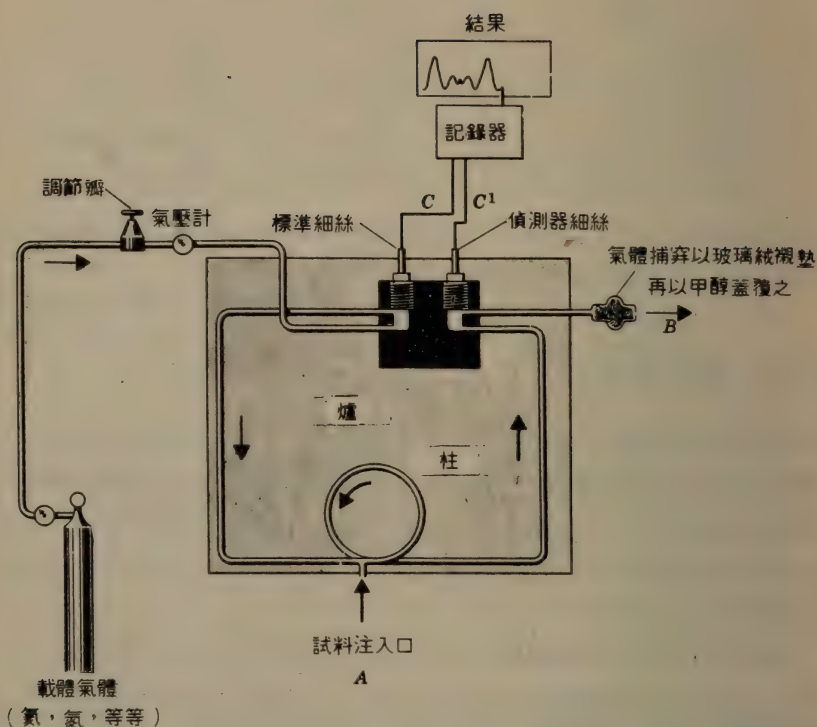
A-2.5 氣體色析法 (Gas Chromatography)

自 1951 年以來，發展廣泛之氣體色析法已成為對揮發質能迅速且正確分析之技術。本質上揮發性物質射入含有液態吸收劑之鈍性固態擔體柱中。分離揮發性物質化合物之基礎乃是各化合物之分配係數之差，蓋有一鈍氣如氮在柱中穿過則揮發性物質在氣液相間有不同分配係數。儀器本身亦頗簡單，如下圖解 A-2.2 所示。

吸收柱首先用載體氣體洗除以前注入之物質，而成為一安定的備用柱。試料由 A 引入。載體氣體輸送此揮發物質進入柱中，在柱中成分分別進入液體吸收劑且分離之；最後，一部分經過一適當的偵測儀器，可將信號送至記錄器，再由記錄器轉變信號連續的圖線。茲將兩種偵測儀簡述如圖解 A-2.2。

熱傳導室法 (thermal conductivity cell) 為一偵測儀器，其基本原理為熱由一熱線導出藉一氣體經過其上。兩個具有高抵抗溫度係數的細絲捲置於兩個金屬座 (C^1 及 C) 上。在線路 C^1 及 C 之間插入一適宜的電阻以聯接成一 Wheatstone 電橋路線。當電流通過此橋， C^1 及 C 線均變熱。最後兩線之平衡溫度端視氣體通過此線捲上之熱傳導而定。若氣體相同，則該線將有相同之溫度及相同之電阻，故此電橋平衡；若一氣體流過 C^1 而同時僅載體氣體流過 C 則兩線上溫度不同，故線上之電阻亦將變化，故 Wheatstone 電橋亦不平衡。此不平衡可由電位差紀錄器測定紀錄之。

第二型偵測儀器為氫焰游離化偵測器 (hydrogen flame ionization detector)。此器十分靈敏，敏感範圍廣而對水則影響不大。理論上，在有機質在氫焰中燃燒時有電子及離子產生。此負離子及電子在高電壓下向陽極



圖解A-2.2

移動而產生一非常微小的電流。此電流直接比例燃燒物質之量。

用氣體色析法可改革性的分析脂肪、脂肪酸、香料成份、混合氣體及任何能轉變為揮發質之化合物。近來更為改進可定量地轉變非揮發質的氨酸為揮發質的衍生物，且若此研究續有進展將可推廣至研究蛋白質的結構矣。

A-2.6 紙色析法 (Paper Chromatography)

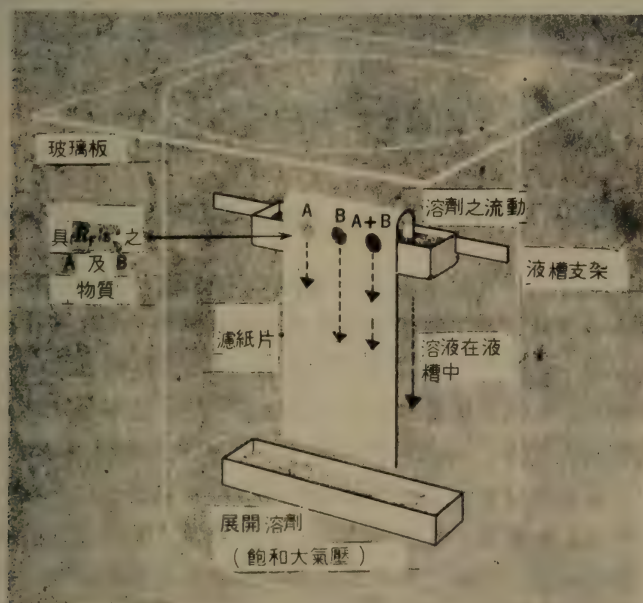
猶如其他簡捷的技術，此法已革命性的分離與測定反應生成物及決定與鑑別化合物。於1944年在美國為Martin氏所發展，如圖(圖解A-2.3)用濾紙片上端倒置在一圓筒容器中，紙片在固定相之水中保持不動，而移動相

之有機溶劑向下移降，藉化合物之二液相間之分配係數差而分離之。

在紙上化合物由原點移動之距離與溶劑由原點移動之距離兩者之比稱為化合物之 R_F 值。在嚴格條件下 R_F 為鑑定目的之重要常數。只要一系列溶劑中對許多化合物有相當多的資料便可推斷未知化合物之官能基。

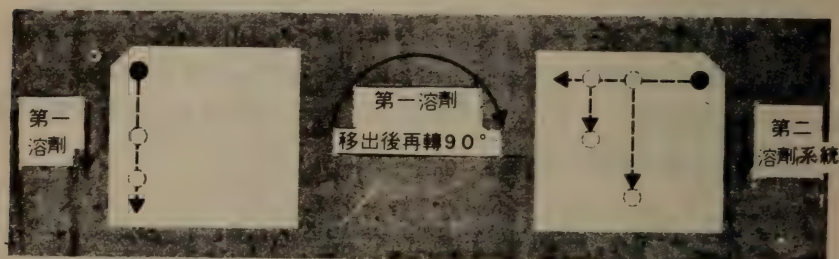
上述方法為一次元色析法 (one-dimensional chromatography)。而二次元色析法 (two-dimensional chromatography) 因有兩種不同溶劑可用於一單一化合物之連續移動，故有重大的效率 (圖解 A-2.4)。

在紙色析方面有種種變化方法均已發展。有：(a) 逆相色析法 (reverse phase chromatography) 其中固定相用非極性溶劑，而移動相為極性的。(b) 紙色析法及電泳動法 (electrophoresis) 聯合成一種方法則涉及離子品種之色析分配與電的移動等問題。



圖解 A-2.3

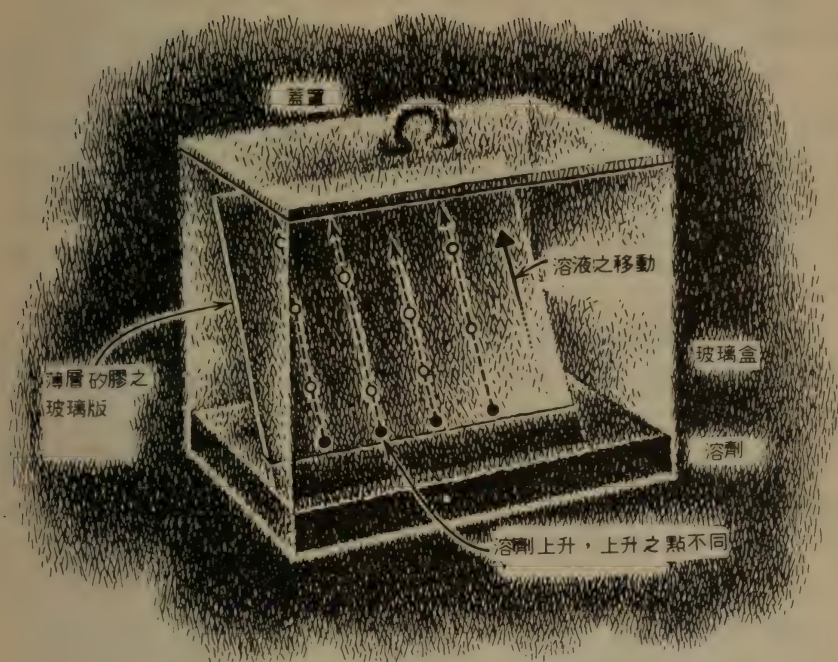
對讀者有一簡單實驗：用Whatman1號濾紙做墨水之色析。試料為各種墨水，（例如 Sheaffer 的永久 Jet Black 墨水）Whatman 1 號濾紙為 20×25 cm，今沿短邊距 2 cm 處置一墨水之小點，待乾後，濾紙兩長邊相接故得圓筒形，然後末端置盛水之杯中水深 1 cm。於是水迅即上升（在一小時內），而墨水中不同色質即擴散其量依各該色質之水中溶解度及纖維之吸着力而定。



圖解A-2.4

A-2.7 薄層色析法 (Thin-Layer Chromatography)

薄層色析法乃在玻璃版上支承一層吸收物質以行吸收色析操作。此均勻之矽膠膜層中含有一種接着劑如硫酸鈣鋪敷玻璃版上。此薄層在室溫中乾燥，然後在 100° 及 250° C 間之灶中加熱使之賦活，加熱溫度可調節活性之大小。然後將此活性版平置實驗台上，試料之“點”仔細用一滴試樣在薄層表面上，試料量在 0.05 mg 至 50 mg 間。溶劑蒸發後將此版斜置玻璃盒中如圖所示，盒底部有適當之溶劑（圖解A-2.5）。經 5 - 30 分鐘後因溶劑經薄層上升而產生分離現象，各成份上升之點與原點之不同距離端視各該成份在矽膠上之吸收情形，或移動溶劑與水被矽膠吸着之情形而定。將此版移出溶劑槽迅即乾燥依在膠上化合物之型式，用各種反應劑或染料溶液霧狀噴射其中，於是顯現各所在點可以測得。再者，吸收的無機層可更具腐蝕性的反應劑。又有用高溫技術之可能，如以濃硫酸噴射後加以碳化，為高靈敏度之檢驗法。故快速有效及敏感之薄層色析已為生物化學中最重要之方法矣。



圖解A-2.5

A-2.8 離子交換 (Ion Exchange)

多價電解質在表面上相反電荷之離子靜電吸引為離子交換色析之依據。典型的物系包括合成樹脂聚合物，如強酸性陽離子交換劑Dowex-50，一聚蘇合香烯之磺酸，及強鹼性陰離子交換劑Dowex-1，一聚蘇合香烯第四氨塩在內，纖維衍生物如羧基甲基纖維(CMC)及二乙(基)氨(基)乙基纖維(DEAE)，交換劑已在純製蛋白質方面成功的利用。

基本原理乃在樹脂表面上交換離子及正常電荷間之靜電相互作用。此等反應可視為平衡程序，且與該離子在樹脂表面上擴散有關，故擴散至交換部位，而最後再由樹脂上擴散出去。游離性化合物在柱中降落之運動速率乃游離程度，其他離子之濃度，及在溶液中所呈各離子之對親和力在樹脂上荷電部位之相對親和力均為其函數。以適當之溶出溶劑(eluting solvent)之pH及離子的強度調節之。離子之靜電緊持力均不同的溶出而得所企之分離

用離子交換樹脂 (ion exchange resin) 之一實例乃純製細胞色素C, 細胞色素C之等電點 (isoelectric point) 為10.05即謂在pH 10.05時, 正電荷數將等於負電荷數。製備含有陽離子交換劑吸收柱緩衝至8.5。此吸收柱為全負電荷。細胞色素在pH 8.5時為全正電荷。一不純之細胞色素C溶液在pH 8.5時置柱上, 且以水穿經此柱, 污染蛋白可自由穿過此柱 (蛋白質之pH常為7.0或稍低) 但細胞色素C則因靜電吸引力固着在樹脂上。若溶劑之pH升高至10, 則細胞色素C將具淨的零電荷, 乃迅速穿出而得純成分。

樹脂柱在分離及純製核貳酸方面非常有用, 核貳酸為小分子量之化合物含有游離的原子團, 氨酸及肽類, 因有效表面有限及蛋白質之易變性, 離子樹脂尚不能成功的提純蛋白質。

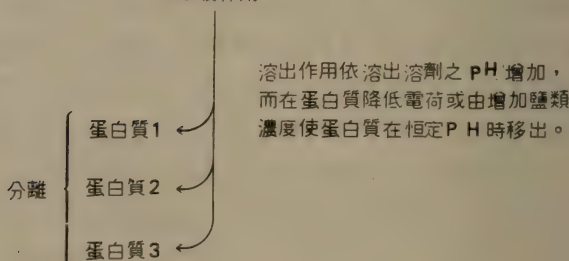
對纖維素衍生物則已有進展, 因此等質具有高吸收能力, 但吸收蛋白質則尚微弱。即謂以適當之pH及塩類濃度, 吸附蛋白質之有效溶出作用可以成功。兩種非常普遍的衍生物已如前述為CMC, 一種陽離子性衍生物, 及DEAE, 一種陰離子性衍生物。

實際操作步驟如下表:

CM—Cellulose: CM—纖維



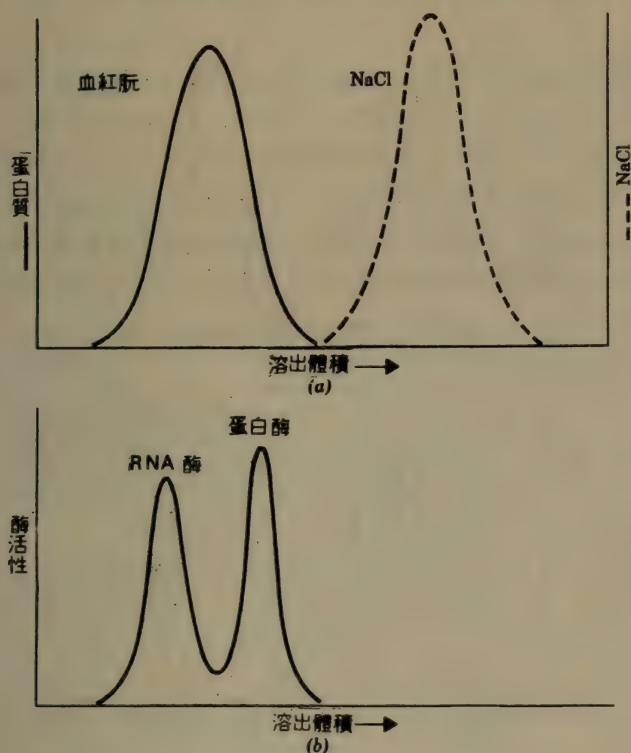
A吸收作用



此相反操作可用於 DEAE 柱則蛋白質在pH 8時吸着在 DEAE 柱上, 且由pH之降低或塩類濃度之增加或二者兼施而溶出之。

A-2.9 膠體過濾法 (Gel Filtration)

經過一膠體之柱而分離不同大小分子之技術稱之謂膠體過濾法 (gel filtration)。多醣類，類糊精 (dextran) 交叉鍵結而成親水性小球，其不溶性在水中呈不溶之膠體。此膠體商業名稱爲“Sephadex”。此物之性質拒溶大尺寸分子，但能擴散小尺寸之分子，此即分離法之依據。



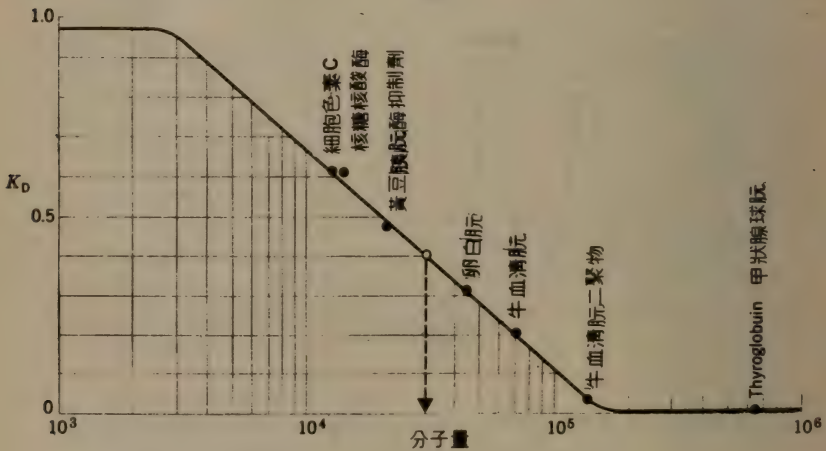
圖A-2-2 典型的溶出型式：(a) 在Sephadex G-25上之透析由鹽中分離血紅朊及 (b) 用Sephadex G-76 在胰臟抽出液中一蛋白質中分離RNA-酶。

在一溶出液中溶質之呈現可表示如下：

$$V = V_0 + K_D V_i$$

此處 V 為一質為 K_D 值之溶出液體積， V_0 為無效體積或膠粒外部之水的總體積， V_i 為膠力內部之水的體積，且 K_D 乃對水在膠粒中水及膠粒周圍水間一溶質之分配係數。 K_D 為零之一質，為由膠球完全的被拒。在 $0 < K_D < 1$ 時則部分被拒。若一含有溶質之試料，其 $K_D = 1$ 而其他 $K_D = 0$ 引入此柱中，則後者在流出一體積 V_0 後之溶出液中出現，而前者則在 $V_0 + K_D V_i$ 體積流出後始出現。

透析法易在一適宜的“Sephadex”柱上實行。此柱先以新緩衝液呈平衡。將蛋白質由柱頂注入，再以新緩衝液溶出。當體積 V_0 經過時，蛋白質在新的緩衝液中溶出，而原來之緩衝液及小分子量的化合物等等均在體積為 $V_0 + K_D V_i$ 之後溶出。此程序甚快速，且對不安定的蛋白質非常有效。因 K_D 隨各種不同分子量之蛋白質而變異，可在膠體過濾法將蛋白質分別大小。化學家曾選用各型 Sephadex 球做為此法之立柱。因此，Sephadex G-25 不容納 3500~4500 分子量之化合物，Sephadex G-50，8000~10,000，



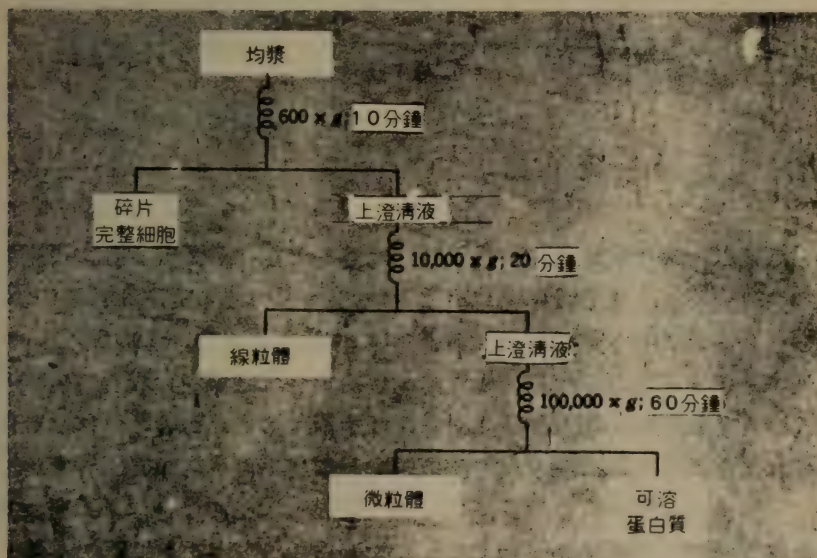
圖A-2-3 由Sephadex G-150 膠體過濾柱測定蛋白質分子量， K_D 及 \log 分子量之間的關係曲線。

及 G-75，為 40,000 ~ 50,000。G-100 及 G-200 之膠體可用於更高之分子量蛋白質。如圖 A-2.2 所示若干典型的分離結果。

一種同等有用的膠體過濾柱之應用，即使蛋白質的純度不是非常高的， V 也可測定分子量的方法。端視蛋白質之可能分子量而定，要選擇適當的膠體，往往選用 Sephadex G-100 或 G-200。此柱要仔細製備，且用已知分子量的溶出之純蛋白質體積而且安定度均由一校正曲線決定之。欲測分子量之蛋白質置於相同柱上，且溶出體積在此同於用已知蛋白質溶出條件下測定之，其結果以 K_D 對 $\log \text{mol wt}$ ，繪製圖線，如圖 A-2.3 所示。

A-2.10 酶類之純製 (Purification of Enzymes)

若反應 $A \longrightarrow B$ 在某種組織中加以研究，首先要做的為發展快速且正確的反應測定法。實驗系統需一酶之活性單位。所謂酶之活性單位定義為：在一單位時間內以一特殊反應變化某量之酶。通常將該組織在緩衝劑中在 0° 至 4°C 間成均漿。若要分離線粒體或質點，可用一等張溶液 (isotonic



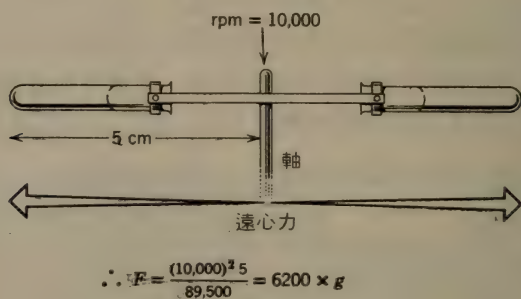
圖解 A-2. 6

solution) 或高張溶液 (hypertonic solution) 即 0.25 至 $0.8M$ 蔗糖, 再以適宜之緩衝劑調節 pH。在此等條件下如上圖解 A-2.6 所示能用以分離蛋白質系統。在此圖中所用之 g 為重力加速度經遠心分離在均漿上呈示者。重力加速度乃在 $1-g$ 質量上距旋轉軸 r (cm) 處所施之力, 可由下式求算:

$$F = \frac{S^2 r}{89,500}$$

此處 F 為相對的遠心力 (g), r 為旋轉軸心之距離以 (cm) 計, S 為速度 (rpm)。故在遠心管底旋轉時 F 為 $6200 \times g$ (圖解 A-2.7)。

蔗糖梯度技術在清晰的分離粒子或即使高分子量的蛋白質是有重大價值的, 已在第九章中詳述。



圖解 A-2.7

組織之丙酮粉末便可用此法製取。此等粉末往往甚為安定且能長期儲存而活性消失不多。實際操作中, 組織 (1 vol) 在 Waring 粉碎器中用 5-10 vol 丙酮在 $0^\circ C$ 時磨碎成漿。此滑漿在 Buchner 漏斗上過濾, 此漿餅在 5 vol 冷丙酮中懸浮, 再過濾一次。操作重複至該粉末脫水且脫脂。取一 vol 新鮮冷凍二乙醚再在 Buchner 抽濾漏斗上由漿餅上過濾, 再將此餅吸乾, 痕跡量丙酮及醚在真空乾燥器中驅除淨盡。此等丙酮粉末均為優良之精製酶的原始材料。

一碎漿, 一可溶性蛋白質抽出液或丙酮粉末抽出液可再以一系列標準純製操作處理之, 其有關操作如下:

以硫酸銨分部沈澱 添加硫酸銨飽和溶液後, 蛋白質便塩析 (salted out) 出來, 且遠心分離之。若條件維持恒定, 則再現性 (reproducibility)

良好。

在磷酸鈣膠體上選擇磷性吸收及溶出蛋白質吸着在此膠體上，再以增加塩濃度之法得不同之溶出液。

汚染蛋白質之熱處理分別變性 在不同pH時蛋白質溶液曝露在續增溫度中爲一常用之法。往往可選用特殊條件使所企之蛋白質安定的留存，而汚染的蛋白質則變性且移去。

等電點沈澱 因蛋白質之離子特性，可調節正負電荷之等電點使溶解度最小而沉澱。

有機溶劑沉澱 不論冷丙酮或乙醇可用增加溶液之介電常數以便沉澱溶液中之不同蛋白質。此法使蛋白質間分子相互作用增大及溶解度減少。

纖維素衍生物之立柱 此等衍生物如 CMC 或 DEAE 均十分有用，有關此等質之利用已在前數頁離子交換一節中論述。

Sephadex 立柱 膠體過濾技術用未變性膠體或膠之具 DEAE 或 CM 側鏈者處理多糖類分子十分普遍，可用以精製蛋白質。已見前述不贅。

此等方法均爲精製酶類的有效措施。所有步驟，必須檢查酶單位特殊活性，產率及回收率等。更詳盡處應參考專門書籍。

A-2.11 純度之規範 (Criteria of Purity)

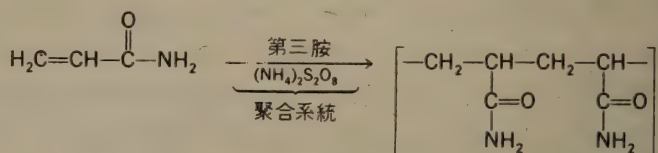
欲試驗複雜蛋白質之詳盡結構，應有品質均勻的試料。故多年來曾發展對蛋白質溶液均一性之分析研究。

A-2.11.1 凝膠電泳法 (Gel electrophoresis) 因蛋白質均爲聚電解質 (poly electrolytes) 所具電荷關係於周圍介質之 pH，電泳技術已發展能在電場中分離一蛋白質之混合物。在一電場中之蛋白質活動度端視在該蛋白質上之電荷數，淨電荷之符號，以 pH 爲函數之解離程度，以及電場強度之大小而定。一種相反的阻力抵抗蛋白質分子的活動度與該離子之大小形狀，介質之黏度，離子之濃度，蛋白質之溶解度，以及承載介質之吸附性質有關。

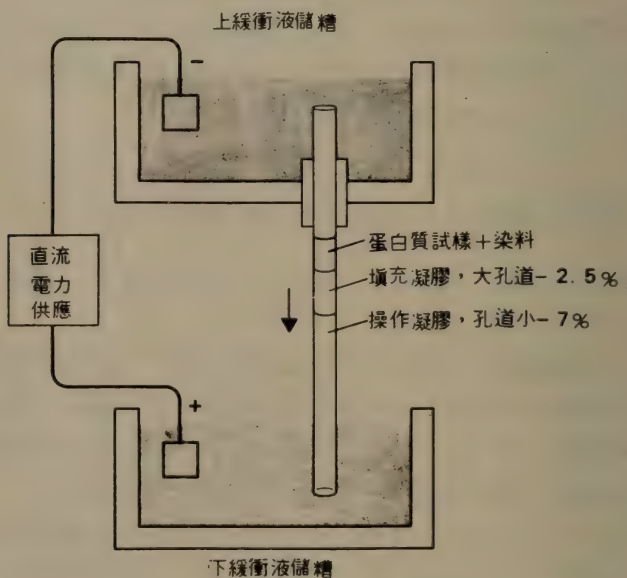
多年來，界面移動電泳技術 (moving-boundary electrophoresis technique) 已用於使蛋白質穿過一緩衝的介質。昂貴的設備，大量的蛋白質，以及蛋白質混合物之有限度分辨率已導致最近發展區域電泳技術 (zone

electrophoresis technique), 藉此技術蛋白質穿過均一的支持物諸如一凝膠、澱粉等等。此法已大為進展, 因使用不昂貴的設備, 又快速, 而又靈敏。

最廣泛又最實用的支持物介質是一種丙烯醯胺 (acrylamide) 與 N,N -二甲基-雙-丙烯醯胺 (N,N -dimethyl-bis-acrylamide) 之交叉鍵性聚合物:



雖然用丙烯醯胺交叉鍵凝膠已發展出各種形式, 而此處將簡短討論的是一種



圖解A-2.8

稱為盤-凝膠電泳法 (disk-gel electrophoresis) 此凝膠電泳法之優點乃“孔道尺度” (pore-size) , 即此凝膠的“篩的作用”直接與此凝膠之濃度有關。故, 藉增加凝膠濃度之範圍由 3 % 至約 9-10 % , 孔道尺度乃減少, 且蛋白質活動就更緩慢了。藉此簡單變化, 能變換荷電蛋白質之活動度且可研究廣大尺寸範圍的蛋白質。

如在圖解 A-2.8 所示, 涉及直流電力供應及緩衝液上下儲槽系統以玻璃管聯通, 管內含有依序盛入之蛋白質試樣, 填充凝膠 (2.5 % 凝膠) , 及操作凝膠 (約 6-7 %) 以具交鏈成分之丙烯醯胺, 亞甲-雙-丙烯醯胺 (methylene-bis-acrylamide) 及聚合之起始劑, 過硫酸銨置玻璃管中製成此凝膠管。操作凝膠安置後, 製備的填充凝膠置於其上。此管再適當地安置在儀器中, 將蛋白質溶液添加在填充的凝膠上, 再開啓電流, 往往添加有示跡的染料的蛋白質混合液做為移動區帶之前端指示劑, 因其在管中向下降落。當示跡染料移動至凝膠柱底部, 將電流關閉, 凝膠管移去, 且為適當之染料着色。對各種蛋白質成分乃得檢視之。

稍加修正, 檢查一未知蛋白質及一已知蛋白質在不同的凝膠濃度上, 且繪出 $\log R_m$ 對凝膠濃度之曲線, 由每條曲線之斜率對分子量, 便可決定該未知蛋白質之正確分子量矣 (見圖 A-2.4)。故藉凝膠電泳法用微克量蛋白質便能確定純度也能確定分子量。修正法涉及參加清潔劑或尿素於凝膠系統中便可估計在一所與蛋白質之次單位數及其分子量。

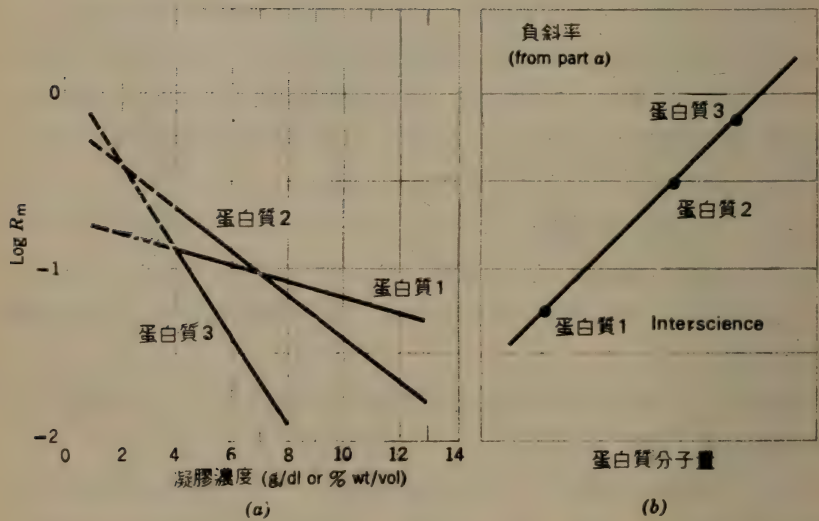
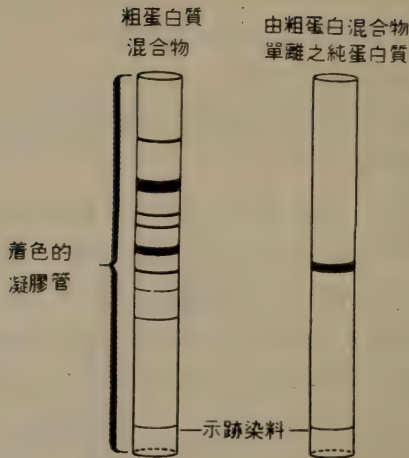
A- 2.11.2 比活性/輔酶率 (Specific Activity/ Coenzyme Ratio)

若一蛋白質有一輔酶與之密切聯結, 且若就各種系列的沈澱, 一恒定的一酶之比活化作用於輔酶濃度之比率乃達成, 這是暗示性證明, 已完成純製之合理程度矣。

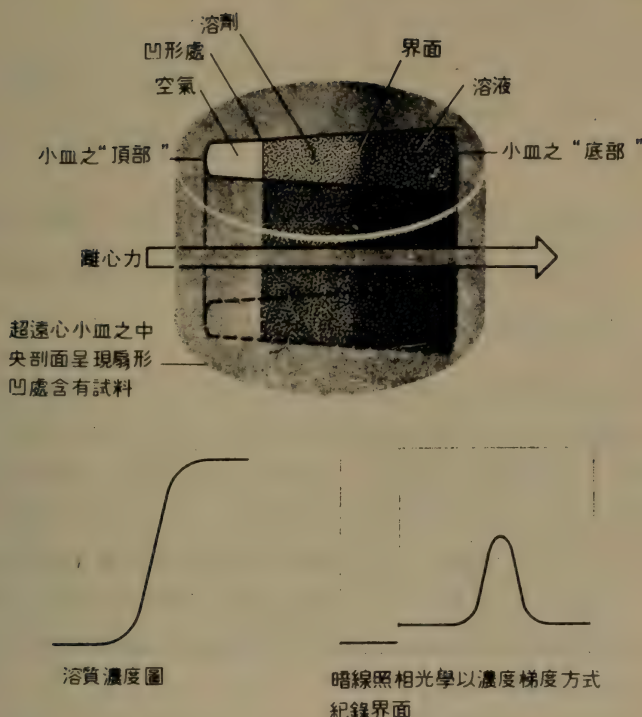
但也能指示一複合蛋白質系統之精巧較研究家的尤甚, 且其技術已小有成就或未能分離污染的蛋白質。

A- 2.11.3 超遠心分離機 (Ultracentrifuge) 此儀器可測定分子之某些性質諸如分子量、型象、大小、密度, 以及在蛋白質溶液中之成份數。超遠心分離機對小體積之溶液 (在石英皿中少於 1 ml 之量) 可仔細控制離心力且藉光學及攝影系統的方法, 紀錄巨分子在遠心力場中之運動情形。

茲述一特殊方法, 用 55,000 rpm 之超遠心分離操作。如圖 A-2.5 所示, 溶質分子原先均分佈在小皿之溶液中, 藉遠心力場乃超過小皿之底部,



圖A-2-4 兩種圖表示明 (a) $\log R_m$ 對凝膠濃度之圖線，此處 R_m = 蛋白質移動至操作凝膠之距離被示跡染料移動至操作凝膠之距離相除之比率；(b) 負斜率對分子量之圖線。(Figures published with Permission From Biochemical Experiment. by G. Bruening, R. Ciddle, J. Preiss and I. Rudert. Wiley New York 1970. Page (13).)



圖A-2-5' 一典型的沈降速度研究。顯示在溶劑及分子溶質間之界面形成情形。可由暗線 (Schlieren) 光學法記錄之 (Beckman Instruments, inc 特許轉載)。

上部之溶劑中不含溶質，僅為溶劑之分子。但亦可取出溶液濃度均勻的部分。在小血中溶劑及溶液間之界面，因轉軸之距離有濃度之變化。測定界面之變化即表面蛋白質分子之運動，為分析法依據。沉降速度又稱為 Svedberg 單位 (S) 可求算。一 Svedberg 單位以瑞典籍先驅人士 Svedberg 之姓名命名之。訂定每單位重力場分子之沉降速即 $1 \times 10^{-13} \text{ cm/sec/dyne/g}$ 對牛血清白朊之 S 值為 4.4；細胞色素 C, 1.83，及菸草病毒為 185。以擴散係數分子量易於求算。即根據 S 及分子量之關係：

$$\text{分子量} = \frac{RTS}{D(1 - V\rho)}$$

此處 R 為氣體常數， T 為絕對溫度， S 為 Svedberg 單位， D 為擴散係數， V 為部分容積，及 ρ 為溶液之密度。

欲決定溶液中成分，一簡單遠心分離法甚易實行，而基於濃度梯度之高峯界面數亦可求得。擴散係數之測定不需求定矣。

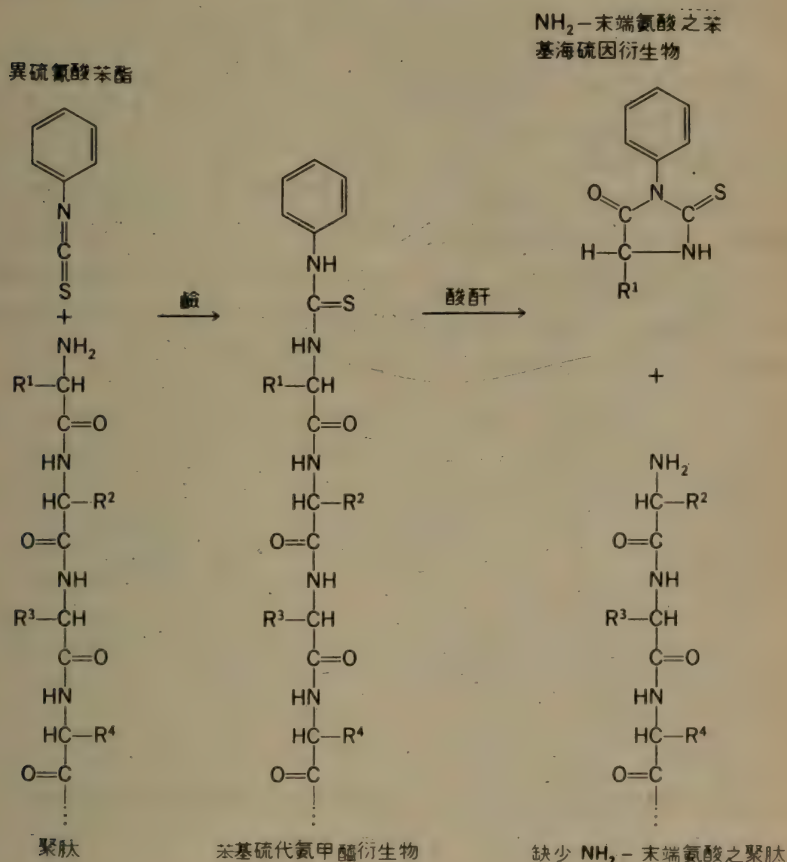
A-2.12 決定一蛋白質中氨酸順序的方法 (Methods for Determining Amino-Acid Sequences in a Protein)

在蛋白質中氨酸順序可用三種基本的分析法決定：(a) 在蛋白質中 NH_2 -末端氨酸之鑑定；(b) COOH -末端氨酸之鑑定；以及(c) 原來聚肽之部分斷裂為較小聚肽，其順序則可決定之。在最後一項方法中，斷裂原來的蛋白質必須小心從事，至少有兩種不同方法，因此在一程序中產生的較小的聚肽與在第二程序中產生的“重疊”了，對於鑑定發生斷裂的原始鏈領域中氨酸的順序提供一方便之門。欲測定之蛋白質結構必須顯然不沾染上任何氨酸或肽類的。知其分子量及氨酸成分，則在蛋白質中發生每種殘基之數可以決定。以此數據，測定順序亦可進行。

A-2.12.1 NH_2 -末端氨酸之鑑定 (Identification of the NH_2 -Terminal Amino-Acid) 當一個聚肽與 2,4-二硝基氟化苯 (2,4-dinitrofluorobenzene) (第4-5.3項) 化合時， NH_2 -末端原子團 (及在肽聯鍵中存在的任何輕氨酸之 ϵ -氨基) 反應乃形深黃色聚肽之 2,4-二硝基苯基衍生物。肽與 6N HCl 繼續水解所有肽鍵， NH_2 -末端殘基 (及賴氨酸的殘基) 之黃色衍生物能用紙色析法由自由氨酸中分離出來，與已知之氨酸衍生物相比較，且鑑別之。 NH_2 -末端殘基亦可用 dansyl 試劑鑑定之 (第4-5.3項)。

在稀薄鹼溶液中聚肽與異硫氰酸苯酯 (phenylisothiocyanate) 之反應 (第4-5.3項)。為聚肽繼續降解的依據，已由 P. Edman 氏發明。在此程序中， NH_2 -末端原子團反應形成苯基硫代氨甲醯衍生物 (phenylthio carbamyl derivate)。其次，用適度之酸處理使 NH_2 -末端氨酸之環化作用及分裂作用即其苯基海硫因 (phenylthiohydantoin，又名乙內醯硫脲)。

此化合物能分離之，見與已知氨基酸之相同衍生物做比較由此鑑別之。酸環境用以分裂此苯基海硫因並非足夠猛烈像斷裂任何其他肽鍵那樣。結論謂此方法能移去且鑑定 NH_2 -末端氨基酸同時產生一聚肽含有比原來的少掉一個氨基酸。此新聚肽現在能以更多異硫氰酸苯酯在鹼中以相同方式及程序一步一步的重複多次降解原來的聚肽。

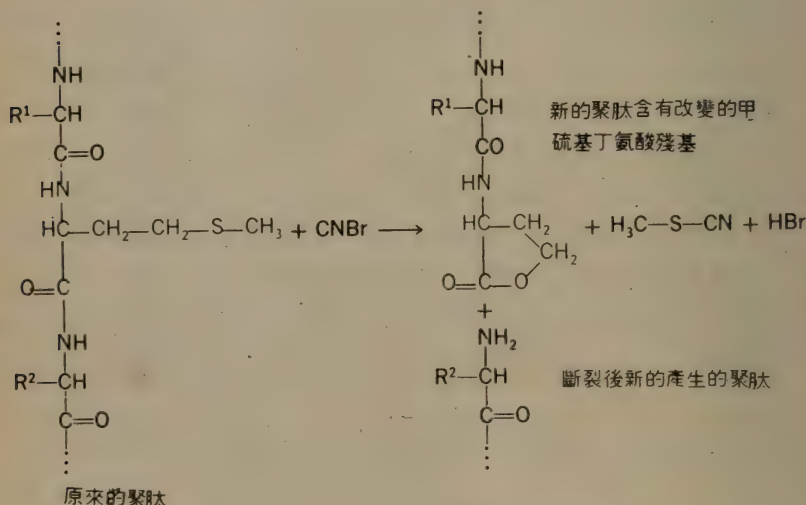


A- 2.12.2 COOH -末端氨基酸之鑑定 (Identification of the COOH -Terminal Amino Acid) 一聚肽之羧基末端 (及在此聚肽中之天門冬酸與麩氨酸-殘基之末端羧基)，能用鋰氫化硼 (Lithium

hydrogen hydride) LiBH_4 還原為對應之醇。首先必須藉乙醯化作用保護自由氨基，且酯化其羧基。此聚肽能用酸水解而產生其組成物之氨基酸與對應 COOH -末端殘基之乙醇，此醇能與 H_2 反應而生成醇。

羧基肽酶 (Carboxypeptidase) 之作用於聚肽上也能用以鑑定 COOH -末端氨基酸，因其作用乃水解聚肽放出氨基酸。主要缺點是酶並不專門作用在原来的聚肽上，而也水解不久形成的新的 COOH -末端肽鍵。故研究家必須依自由氨基酸之形成率來學習原來聚肽中在末端代表的殘基。

A-2.12.3 蛋白質分裂為較小的單位 (Cleavage of Protein into Smaller Units) 已經使用酶的及化學的方法產生較小聚肽可在順序中以稀酸部分水解能利用。溴化氰 (cyanogen bromide) (CNBr) 也被使用，因適用的情況能只斷裂肽鍵其中羰基屬於甲硫基丁氨酸殘基。甲硫基丁氨酸殘基變為高絲氨酸之取代內酯。此高絲氨酸便束合在反應中產生的兩條肽中之一條上。此法可決定原來肽中甲硫基丁氨酸殘基範圍內的氨基酸數。此外，已知原來聚肽中甲硫基丁氨酸之數，便可預言較小的聚肽數，而此較小聚肽便是用 CNBr 處理後之結果。



准核的酶已廣泛使用於斷裂蛋白質為較小的聚肽然後再以上述方法分析之。例如胰朢酶 (trypsin) 已知能水解此等肽鍵，其中羧基乃由賴氨酸或魚精氨酸所提供。再以溴化氰反應，若賴氨酸及魚精氨酸在蛋白質中為已知者，則可預言藉胰朢酶形成之聚肽數。

胰凝乳朢酶 (chymotrypsin) 也水解此等肽鍵，其中之羧基是屬於苯基丙氨酸、酪氨酸，或色氨酸的。胃朢酶分裂肽鍵其中之氨基由苯基氨基丙酸，酪氨酸、色氨酸、賴氨酸、麩氨酸，以及天門冬酸所提供。使用胰朢酶，其作用十分特殊，而且不是胰凝乳朢酶便是胃朢酶，研究者能得在順序中重疊的原來蛋白質或聚肽之碎片。一俟在此等碎片中之氨酸順序為已知，則各個碎片可鑲嵌在一起。若，在胰島素的場合 (第 19-12 節) 原來的蛋白質用簡單的二硫鍵還原作用易於分離為兩部分，則此二分離鍵之順序便可決定了。

參 考 文 獻

1. S.P. Colowick and N.O. Kaplan, eds., *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press, 1955 to date.

這是多冊包涵幾乎所有生物化學中使用的程序與方法之一般性及專門性的參考書。各篇均由內中各專家執筆撰寫的。

2. G. Bruening, R. Criddle, J. Preiss, and F. Rudert, *Biochemical Experiments*. New York: Wiley-Interscience, 1970.

一本非常有用的實驗室手冊有生物化學家感興趣的一般技術的優良討論文字。實驗均保證可行的！

3. Robert, L. Pecsok, L. Donald Shields 著，潘家寅譯，現代分析化學中華書局出版。因附錄中篇幅有限，未盡詳述之處，本書均有更詳盡的陳述，譯者識。

索引

Index

A

- 吸收指數 (a_s) 673
 醋酸, 的分子式 67
 之 pKa 21
 乙醯醋酸, 一酮體 415
 之 pKa 21
 丙酮, 一酮體 415
 乙醯基 -CoA, 爲一親電子質 261
 爲一親核質 261
 之起源, 對於脂肪酸生物合成 418
 一硫酯的型式 170, 261
 乙醯基 -CoA 羧化酶, 一種生物素酶 242
 在脂肪酸合成中 417~418
 在代謝的調節中 638
 乙醯基 -CoA : 丙二醯 -CoA 羧基轉
 酶, 之描述 242~244
 N-乙醯基-D-半乳糖胺 62
 N-乙醯基-D-葡萄糖胺 61
 β -D-N-乙醯基己糖胺酶 A 634
 N-乙醯基壁酸 62
 O-乙醯基絲氨酸 517
 乙醯基轉醯基酶, 在合成酶錯合物中 420
 酸性糖式酶, 在溶菌體中 306
 酸性磷酸酶, 在溶菌體中 306
 烏頭酸酶, 在三羧酸循環中 380
 ACP (醯基載體蛋白質) 262
 “似·ACP狀”蛋白質 419
 頂體, 尖體, 之描寫 307
 ACTH (促腎上腺皮質激素) 126
 賦活能 159
 活性甲硫基丁氨酸 548
 活化部位 181
 活化傳遞, 之機程 312
 模式 307
 呼吸連鎖 314
 呼吸有關之圖解 314
 活化度, 活性 6
 活化係數 6
 醯基載體蛋白質 (ACP),
 在泛酸中 260
 之結構 260
 醯基-CoA 脫氫酶 406
 D(-) 3-OH 醯基 -CoA 差向異構酶 412
 醯基-CoA 合成酶 405
 之反應 400
 1-醯基-二羥丙酮磷酸鹽 430

- 醯基甘油 73
 醯基 - 脂肪醯錯合物, 之分子式 240
 醯基磷酸鹽 168
 醯醇基硫胺素錯合物, 之分子式 240
 腺嘌呤, 之分子式 132
 5'-二磷酸-腺甙 (ADP), 之分子式 136
 一能量豐富之化合物 165
 3',5'-二磷酸腺甙, 一種輔酶 A 之成分 260
 5'-一磷酸腺甙, 之分子式 136
 在代謝控制中 466
 3'-磷酸-5'磷硫酸腺甙 (PAPS) 之分子式 515
 5'-磷硫酸腺甙 (APS), 之分子式 515
 5'-磷硫酸腺甙激酶 516
 5'-三磷酸腺甙 (ATP)
 一種能量豐富的化合物 164
 之分子式 136
 5'-三磷酸腺甙, 之級位, 在代謝控制中 579
 5'-三磷酸腺甙, 之起源, 對於脂肪酸之生物合成 418
 S-腺甙甲硫基丁氨酸 548
 在磷脂類生物合成中 428
 在RNA合成中 598
 S-腺甙甲硫基丁氨酸-RNA甲基轉基酶, 在核仁中 297
 腺甙酸鹽環化酶 651
 在脂類代謝作用中 403
 腺甙酸, 之形成 561
 腺甙醯琥珀酸 562
 腺甙酸化, 麩醯胺合成酶之脫腺甙酸化系統 647
 腺甙醯基轉基酶 647
 脂肪組織, 之脂肪細胞 403
 在脂類代謝中 401
 腎上腺素 649
 在脂類代謝中 403
 促腎上腺皮質激素 (ACTH) 126
 需氧途徑, 在生物合成不飽和脂肪酸中 424
 氨基丙酸, 之分子式 88
 之滴定曲線 94
 β -氨基丙酸, 之分子式 92
 D-氨基丙酸, 在 teichoic 酸中 286
 氨基丙酸轉基酶 526
 酒精脫氫酶, 在酒精發酵中 333
 之動力的參數 188
 經催化反應 228
 酒精發酵, 之描述 320
 醛亞胺 249
 醛縮酶, 在糖酵解中 325
 鏈烷, 之氧化 411
 黑尿病 633
 1-烷氧基磷脂 75
 烷基化試劑, 在突變形成中, 590
 尿囊酸酶 544
 尿囊素酶 544
 D-阿洛糖, 之分子式 40

- 別樣立體的酶，反效酶 640
- 之定義 208
- D-阿卓糖，之分子式 40
- α -鵝膏汀 598
- 氨酸，之活化 608
- 球及棒狀分子式 87
- 之生物合成 545
- 之分類 88
- 之代謝的最終產物 534
- Fischer 投影分子式 87
- 生糖的性質 465
- 疏水性的 88
- 之生酮的性質 465
- 之代謝的 533
- 非極性的 88
- 之反應 96
- 與乙醛之反應 95
- 與亞硝酸之反應 98
- 之滴定 93
- 之傳遞 316
- 氨酸附着部位，在 tRNA 中 612
- 氨酸氧化酶，在脫氨作用中 528
- 氨酸 tRNA 合成酶 608
- 氨酸順序，決定之方法 690
- 氨基醯基腺甙酸鹽 608
- 氨基醯基部位，在核酸體中 619
- α -氨基己二酸，在賴氨酸生物合成中 632
- γ -氨基丁酸，之生成 533
- 5-氨基嘧啶-4-羧基核糖核甙酸 559
- 5-氨基嘧啶核糖核甙酸 559
- δ -氨基乙醯丙酸，在嘧啶生物合成中 551
- 氨，之同化作用 507
- 氨加成消去酶類，在脫氨作用中 529
- AMP，見 5'-一磷酸腺甙
- cAMP，見環狀 AMP
- 兩性途徑化合物，之定義 76
- 兩性途徑脂類 74
- 之性質 294
- 澱粉酶 347
- α -澱粉酶 59, 347
- β -澱粉酶 59, 347
- 胰澱粉酶 58, 59
- 直鏈澱粉 58
- 組成過程 158
- 嫌氣途徑，在生物合成之不飽和脂肪酸 425
- 組成補充的反應 388
- 動物細胞，脂質成分 83
- 之表面 288
- 動物，在脂肪酸中之延長 422
- 抗體 123
- 反暗碼 145
- 反暗碼部位，在 tRNA 612
- “反-蛋白損害因數” 241
- 反凍結蛋白質 123
- 抗體原 124
- 抗霉素 A，電子傳遞之抑制 445
- 反平行 β -褶疊頁片 116
- 反常性絞股 595

- APS 激酶, 見腺甙-5'-磷酸激酶
- 外尿酸 144
- D-阿拉伯糖, 之分子式 40
- 花生酸, 廿碳酸, 之分子式 67
- 花生四烯酸 427
- 之分子式 67
- 精氨酸酶 541
- 精氨酸, 之生物合成 632
- 之分子式 90
- 在研究中變種生物之使用 632
- 精氨基琥珀酸分裂酶 540
- 精氨基琥珀酸合成酶 539
- Arrhenius 方程式 194
- 抗壞血酸, 生物化學的功能 264
- 之生物合成 263
- 之分子式 264
- 之存在 263
- 天門冬醯胺酶, 脫胺作用 531
- 天門冬醯胺, 之分子式 90
- 天門冬酸鹽轉氨基甲醯酶, 之抑制作用 640
- 天門冬氨酸, 之分子式 90
- 之滴定 97
- 天門冬酸轉氨基甲醯酶, 在嘧啶生物合成中 564
- 同化性硫酸鹽還原作用 516
- 原子%過量 672
- ATP, 見 5'-三磷酸腺甙
- ATP 酶, 在核仁中 297
- ATP 依存輸送 315
- ATP 硫醯酶 515
- 抗生朮 241
- 維生素缺乏病 E, 之描寫 271
- 軸的型態 45
- 氮雜環丁二烯-2-羧酸 92
- 之分子式 92
- 偶氮鐵還原氧化體 505
- B**
- 地衣形芽孢桿菌, 葛蘭姆正性的顯微照片 287
- 細菌細胞, 之脂質組成 82
- 細菌的光合成 470
- 在電子流中 482
- 細菌的病毒 153
- Beer 定律 673
- 山萘酸, 廿二碳酸, 之分子式 67
- Bence-Jones 蛋白質 125
- 苯醌-CoA, 在馬尿酸合成中 603
- 腳氣病 244
- 二官能齊聚的酶類 216
- 生物素-賴氨酸, 之分子式 242
- 生源體的胺類 532
- 生物的氮固定作用 442
- 生物素, (維生素 H), 之分子式 241
- 之功能 242
- 存在 241
- 生物素羧基酶, 催化反應 243
- 生物素羧基載體蛋白質 (BCCP), 之描述 243~244
- 生物素依賴羧酸酶, 之描述 242
- 血液, 之凝塊機程 275
- 血蛋白質 123

- 鍵緊張，歸因於靜電的拒斥力 166
- 支鏈生物合成途徑，之調節 641
- Brönsted 酸 9
- Brönsted 鹼 12
- 緩衝劑，之作用 18
- 之本領 22
- 之定義 22
- 之機程 22
- 之製備 26
- 緩衝問題 25.664~668
- 緩衝劑，血液 24
- 生理的 23
- 之表格 24
- 維管束鞘細胞 493
- 維管束鞘細胞，之顯微照相 304
- 丁酸，之分子式 67
- D- β -OH 丁酸脫氫酶 363
- C
- C₄-途徑，在光合成中 490
- ¹⁴C 672
- 屍毒素 156,296
- 鈣化醇，骨化醇，維生素D₂ 269
- 鈣鍵合蛋白質 (CaBP) 269
- 鈣滲透 269
- Calvin循環，在光合成中 484~488
- 之化學計量學 487
- CAP(分解代謝基因賦活劑蛋白質)
- 束合部位 655
- 己酸，之分子式 67
- N-氨基甲醯天門冬酸 565
- 氨基甲醯激酶，在氮之同化作用中 508
- 氨基甲醯磷酸鹽，在氮之同化作用中 537
- 之合成 537
- 氨基甲醯磷酸鹽合成酶 537
- 碳水化合物，之定義 28
- 為能量之儲存形式 398
- 碳-14 (¹⁴C) 672
- 碳，之途徑，在光合成中 483~488
- 二氧化碳之固定 336
- 二氧化碳固定反應，之性質 390
- 二氧化碳還原作用循環 484~488
- 之化學計量化學 487
- 碳酸酐酶 24
- 之螺旋含量 120
- 羧化作用相，在Calvin循環中 484
- 羧(基)肽酶 692
- 之螺旋含量 120
- 羧基肽酶A，之作用 215
- 之分子量 213
- 羧基肽酶B，之作用 215
- 肉毒鹼(3-羥基-4之三甲基鉍丁酸鹽) 404
- 肉毒鹼-醯CoA轉基酶 404
- β -胡蘿蔔素，之分子式 79,266
- 載體，擔體，在運輸程序中 309
- 階式系統，之性質 649
- 分解代謝程序 158
- 分解代謝物抑制 658
- 過氧化氫(放氧)酶 459
- 催化中心，之活度 189

- 催化部位 209, 641
 在溶酶體中之組織胺酶 306
 動物細胞表面的“細胞塗層” 288
 纖維二糖，之分子式 55
 細胞細微器官，之單離 292
 細胞壁，之描述 284
 纖維素酶 60
 纖維素 60
 在植物細胞壁中 288
 之結構任務 288
 腦磷脂 74
 腦胺 432
 腦甙，之分子式 77
 鏈異構物 30
 化學聯偶 454
 化學滲透聯偶 455
 化學自養生物，之定義 511
 掌狀碳原子 31
 掌狀中心 31
 殼質 61
 β -氯乙胺，在突變形成中 591
 葉綠素，經光之吸收 477
 之能量狀態 477
 葉綠素 a，之分子式 475
 葉綠素 b，之分子式 475
 葉綠體，之組成成分 304
 之任務，在光呼吸中 499
 葉綠體層片膜，之組成成分 291
 膽鈣化醇（維生素D₃），之結構 269
 膽甾醇，膽固醇 432
 膽甾醇，之生物合成 432~434
 之分子式 79
 膽固醇之合成，之調節 435
 軟骨素 62
 核染質，在核中 297
 紫硫細菌 471
 載色體（色素細胞） 474
 之定義 305
 乳糜微粒 81
 之組成成分 400
 胰凝乳胺酶，胰凝乳酶 214
 之作用 215
 之螺旋含量 120
 之利用，在蛋白質順序中 693
 胰凝乳胺酶原，糜蛋白酶原至糜蛋白酶，
 之轉變 653
 胰凝乳胺酶原 A 214
 作用子 616
 檸檬酸鹽裂解酶 394
 檸檬酸鹽溶酶，在脂肪酸合成中 417
 檸檬酸鹽合成酶，在脂肪酸合成中
 417~418
 之調節 387
 在三羧酸循環中 379
 檸檬酸 379
 之 pKa 21
 之任務，在代謝控制中 466
 檸檬酸循環，之嫌氣的性質 387
 之反應 374~384
 L-瓜氨酸 92
 蛋白質之裂解，藉溴化氰之作用 692
 凝塊，之機程 276

- “三葉草葉”結構 145
 CO₂固定作用 336
 外層蛋白質 153
 鈷醯胺輔酶，之分子式 257
 輔羧酶，之分子式 244
 密碼，暗碼 610
 之定義 614
 輔酶 212
 輔酶 I 224, 198
 輔酶 II 224, 198
 輔酶 A，之功能 260
 在泛酸中 260
 輔酶 B₁₂，或鈷醯胺輔酶 257
 輔酶 B₁₂，合成酶，催化反應 258
 輔酶 Q₁₀ 441
 輔酶，與維生素之關係 223
 骨膠原 116
 之形成 264
 之結構 118
 柱體色析法 685
 分區作用，酶之～ 636～638
 棧粒體之～ 393
 競爭性抑制作用 203
 之交互標繪 206
 之典型的曲線 205
 複合體，次線粒體的，在呼吸連鎖中 445
 協調的回饋抑制 643～644
 “協調的”模式 209
 “協調的-對稱的”模式 211
 形態的偶聯 455
 守恒性重複 581
 結構性酶類 657
 結構性酶類形成，模式 657
 結構性突變 657
 COOH末端氨酸，之鑑定 692
 合作性束合 209
 協聚酶 582
 內生區聚合酶 596
 輔抑制物 654～655
 偶聯反應，涉及NAD的 231
 偶聯因子，F₁ 300
 偶聯因子 454
 反應的偶聯 173
 肌酸，之分子式 92
 肌酸激酶，之分子量 215
 脊，在膜中之結構 300
 累積性回饋抑制 644
 居里，之定義 671
 氰鈷氨素，氰鈷氨維生素，之分子式 256
 偕醇脲合成 35
 溴化氰 (CNBr) 692
 環狀腺苷酸，見環狀AMP
 環狀AMP 136, 356, 650
 環狀AMP磷酸二酯酶 650～651
 環狀磷酸化作用 482
 環狀光合磷酸化作用 473
 環狀多肽，之合成 605
 丙氨酸丁氨酸硫脲酶 518
 丙氨酸丁氨酸硫脲合成酶 I 518, 546
 半胱氨酸胺，輔酶之一成分 260

- 半胱氨酸，之生物合成 546
 之分子式 89
 之電離作用 95
 在鏈之交鍵中任務 113
 受質附着在～ 113
 之硫醚橋
- 半胱氨酸脫氫硫基酶 519
 半胱氨酸脫氫硫基酶
 在胺作用中 530
 半胱氨酸氧化酶 519
 半胱氨酸亞磺酸 519
 半胱氨酸合成酶 518
 胱氨酸，之二硫鍵 113
 二磷酸細胞，嘧啶核甙膽鹼，之分子
 式 428
 5'-三磷酸細胞嘧啶核甙 567
- 細胞色素 a 443
 細胞色素 b₅ 443
 在完全蛋白質中之～ 295
 細胞色素 c 119
 吸收光譜，氧化形式之～ 444
 還原形式之～ 444
 之氨酸順序 122
 束合機曄在蛋白質上 445
 之螺旋含量 120
 之親水性（外周）113
 一種末端（外周）蛋白質 295
 之溶解作用 443
- 細胞色素 f，在光合成中 481
 細胞色素氧化酶 444
 細胞色素 P₄₅₀，在脂質氧化作用中
 411
- 細胞色素，在電子傳遞中 441
 細胞鹼 611
 細胞嘧啶，之分子式 133
- D
- 5-二甲基氨基-萘-1-氯化磺醯分子
 式 100
 ～試劑 690
- DCMU（二氯苯二甲基脲素）481
 脫腺甙酸作用甙醯胺合成酶 647
 脫氨基作用 527
 氧化性的 527～528
 “脫支鏈”酶 59
- 癸酸，之分子式 67
 脫羧基作用，氨酸之～ 531
 之一般反應 248
 之機程 249
- 脫甲醯酶，在終止作用中 626
 7-脫水膽甾醇 269
 穩變甾醇 434
 脫氮作用 513
- 2-脫氧-D-呋喃核糖，之分子式 46.
 脫氧-核糖核酸酶 130
 在溶酶體中之 306
 2-脫氧-D-核糖 46,130
 清潔劑，之細菌的生物降解 411
- 氘 673
 糖尿病，應用於脂肪中 415
 二醯基甘油 73
 二醯基甘油醯基轉基酶 400
 二醯基甘油酯酶在脂質代謝中 403
 二氨基庚二酸，在賴氨酸生物合成中
 632

- 非對映(立體)異構物, 之定義 38
- 分散高爾基體, 之描述 307
- 差異遠心分離法 484
- 3-sn-二半乳糖醯二醯基甘油之分子式 78
- 二半乳糖醯二醯基甘油, 在葉綠體中 83
- 二氫葉酸(DHF), 之分子式 250
- 二氫脂醯脫氫酶 217~218
- 在丙酮酸脫氫酶中 378
- 二氫硫辛醯轉醯基酶 217~218
- 在丙酮酸脫氫酶中 378
- 二氫乳清酸酶 564
- 二氫乳清酸 564
- 二氫乳清酸脫氫酶 565
- 二氫神經鞘氨醇 76
- 二氫尿嘧啶, 之分子式 134
- 二羥基內酮磷酸鹽
- 在磷脂類生物合成中 429
- 1- α -25-二羥基膽鈣化醇之結構 270
- 二異丙酯氟磷酸鹽 202
- 稀釋因子, 之定義 671
- 下基丙烯基焦磷酸鹽在膽甾醇生物合成中 434
- 5-二甲基氨基-1-萘氯化磺醯 100
- 5,6-二甲基苯並咪唑, 在維生素B₁₂中 256
- N²-二甲基鳥嘌呤, 分子式 132
- 硫酸二甲酯(DMS), 在突變形成中 591
- 2,4-二硝基氟化苯 690
- 2,4-二硝基酚, 一種非偶聯劑 449
- 二醇脫氫酶, 催化反應 259
- 一種維生素B₁₂酶 259
- 二氧化酶 458
- 1,3-二磷酸甘油酸
- 一種形式的醯基磷酸鹽 168
- 二磷酸吡啶核甙酸(DPN⁺) 226
- 白喉, 分子的說明 625
- 白喉毒素, 蛋白質合成的抑制 624
- 二糖類 54
- 盤片-膠體電脈法 687
- 分散的複製 580
- 硫酸鹽還原作用異化性 516
- 分配係數 682
- DNA, 之雙螺旋 151
- 之酶的水解 146
- 雙螺旋之形成 152
- 之水解 143
- 之“熔融” 140, 142
- 之模式 151
- 之復原 141
- 之結構 148
- 之第三結構 152
- 的熱變性曲線 141
- 的紫外線吸收光譜 140
- DNA, 之作用 146
- DNA鏈結酶, 動物的 586
- 大腸菌 585

- 之機程 585
- DNA聚合酶 585
- DNA聚合酶 I, 在修理機程中 592
- DNA聚合酶 III 582
- DNA聚合酶 α , 586
- DNA聚合酶 β , 586
- DNA聚合酶 γ , 586
- DNA聚合酶, 線粒體的 586
 - 大腸菌之三官能的活性 588
 - 病毒的誘發 586
- DNA聚合酶, 在脊椎動物中 586
- DNA樣板, 與~聯結 596
- DNB 690
- 托巴胺, 之產生 532
- 雙鍵, 之引入 426
- 雙股RNA 141
- 動力的代謝作用, 氮化合物之 524
 - E
- E_A 賦活能 194
- 效果因子 209
- 愛因斯坦單位, 定義 476
- α -桐酸, 十八碳三烯-[9,11,13]
 - 酸之共軛雙鍵系統 70
 - 分子式 67
- 彈性酶 214
- 電子傳送, 涉及之成分 439
- 電子傳遞鏈鎖, 之定義 439
- 延長, 在蛋白質合成中 620
 - DNA之 582
 - RNA之 598
- 延長程序 625
- 延長步驟 622
- 延長系統 422
- 溶出容積 682
- 對映體, 之定義 31
- 吸能的反應 159
- 內吞作用, 之定義 307
- 內核酶, 之作用 147
- 內胞網狀質, 之細胞色素 298
 - 之描寫 297
 - 之酶類 297
 - 粗糙表面 297
- 終結生成抑制作用 640
- 終結生成阻遏 657
- 內毒素, 之定義 287
- 能量充給 257~360
 - 之任務, 在代謝的控制 466
- 能量守恒程序 453
 - 在光合成中 477~479
- 能量豐富的化合物 163
- 烯醇化酶, 在糖酵解中 330
 - 之分子量 215
- 烯醇的磷酸鹽 169
- 烯醇基-ACP水化酶, 在合成酶複合體中 420
- 烯醇基-ACP還原酶, 在合成酶複合體中 420
- 烯醇基-CoA水化酶 406, 412
- 烯醇基-CoA異構酶 412
- Entner-Doudoroff 途徑 372
- 烯 160
- 酶類, 爲催化劑 197

- 之化學的修正, 表 645
- 之分類 199
- 之定義 181
- 效應, 在賦活能上 193
- 在 ΔG , 或平衡常數方面 193
- 之抑制劑 201
- 之最大速度 184
- 之純化作用 683
- 之特徵 198
- 酶作用, 立體特性 198
- 酶活性, 之單位 683
- 酶分區作用 636~638
- 酶濃度, 之效應 182
- 酶抑制作用, 之型式 640
- 酶-受質複合體, 在 K_m 之導式中 185
- 酶單位, 之定義 189
- 差向異構物, 之定義 38
- 腎上腺素 357
- 上皮細胞, 脂質進入之吸收 399
- 赤道的形態 44
- 動質 297
- 麥角固醇 269
- 紅銅朮 459
- 原藻糖, 赤蘚糖 36
 - 之分子式 36
- 4-磷酸原藻糖 370
- “基本脂肪酸” 428
- 酯之形成 53
- 乙基甲烷硫酸酯, 在突變形成中 591
- 真核生物, 在轉寫中 598
- 真核的, 之定義 283
- 真核細胞, 之比較
 - 與准核的 284
- 之脂質成分 83
- 在代謝的調節中 637
- 放能的反應 159
- 外分泌細胞, 電子顯微照片 298
- 外分泌細胞, 胰的, 蛋白質合成 631
- 3'→5'外核酸水解酶活性 587
- 5'→3'外核酸水解酶活性 587
- 外因 258
- F
 - 促進擴散, 之機程 309
 - 模式 310, 313
- FAD 234, 236
- 法呢烯醯焦磷酸鹽,
 - 在膽固醇生物合成中 434
- “遠紅降落” 470
- 脂肪酸, 之生物合成 415~422
 - 之化學反應性 68
 - 之定義 66
 - 之解離 68
 - 之命運, 在饑餓中, 絕食中 415
 - 自由的命運, 在體內 414
 - 之幾何異構作用 69
 - 傳遞機程 404
- 脂肪酸合成, 與葡萄糖合成之比較 422
 - 在哺乳類肝臟中 421
- 脂肪酸合成酶 419
- 一種多重酶複合體 217

- 脂肪酸合成酶複合體 416
 反饋抑制作用 643
 反饋調節，氨酸合成之 642
 鐵還原氧化體 239
 在光合成中 478
 之結構 440
 鐵還原氧化體還原質 480
 FFA-白朊複合體 401
 血纖維朊原 275
 纖維蛋白質，之形態 117
 之定義 116
 氮之固定 503
 火焰電離偵測 675
 黃素腺嘌呤二核甙酸 (FAD)
 之分子式 234
 作用之機程 235
 黃素-核甙酸 (FMN)，之分子式 235
 作用之機程 235
 黃朊 235
 在電子傳遞中 439
 之表 237
 “流體嵌合”模式 291, 296
 螢光 477
 氟化檸檬酸鹽 385
 1-氟-2,4-二硝基苯 99
 FMN 233, 235
 L-葉酸還原酶 250
 葉酸，之分子式 250
 之功能 250
 之存在 250
 有關反應 253
 在甲硫基丁氨酸生物合成中之任務 255
 在絲氨酸-甘氨酸相互轉變中 253
 在 5'-磷酸胸腺嘧啶核甙之生物合成 254
 5-甲醯胺嘧啶-4-羧基醯胺-核糖核甙酸 560
 蟻酸，之 pKa 21
 甲醯酶 622
 甲醯基甘氨酸醯胺核糖核甙酸 557
 α -N-甲醯甘氨酸醯胺核糖核甙酸 557
 N-甲醯甲硫基丁氨酸 543
 N¹⁰-甲醯 THF 252
 N¹⁰-甲醯 THF 合成酶 252
 分部沉澱法 684
 自由能，之觀念 159
 水解之～，標準值之表 173
 在標準變化中 160
 果糖 1,6-磷酸酶，在代謝調節中 638
 D-果糖，之分子式 38
 果糖-1,6 磷酸酶，之調節 639
 之分子量 215
 1,6-二磷酸果糖醛縮酶之動力的參數 188
 1,6-二磷酸果糖磷酸解酶之調節 338
 L-巖藻糖，之分子式 47
 反丁烯二酸酶，在三羧酸循環中 383~384

反丁烯二酸 383

之 pK_a 21

官能基異構物 30

呋喃 41

糖醛 49

無價值的循環 639

G

$\Delta G'$ 162

半乳糖激酶 343

半乳糖脂質 77

D-半乳糖酸之分子式 50

D-半乳糖胺之分子式 48

D-半乳糖，之分子式 38

半乳糖，之使用 343

半乳糖血症 345, 633

β -半乳糖甙酶，在還原中 654

半乳糖甙，透膜酶 654

半乳糖甙酶，抑制物 654

α -D-半乳糖醛酸，之分子式 50

氣體色析法 675

凝膠電泳法 685

凝膠過濾 681

遺傳（基因）暗碼 612

遺傳暗碼，之無逗點性質 615

之退化性質 614

之未重疊性質 615

暗碼表 613

之普遍性質 614

遺傳缺陷 631

幾何的異構現象 30

犏牛兒醯焦磷酸鹽

在膽甾醇生物合成中 434

玻璃電極 669~670

球狀蛋白質 118

之定義 116

葡萄糖 126, 357

糖原異生 336

與脂肪酸合成之比較 422

之調節 639

D-葡萄糖酸，之分子式 50

D-葡萄糖胺，之分子式 48

D-葡萄糖，之鏈的形態 45

之分子式 40

之半縮醛形式 42

之結構 38

6-磷酸葡萄糖解酶

之活化 80

之動力參數 188

在代謝調節中 638

在糖原異生中之任務 339

6-磷酸葡萄糖，之氧化作用 224

6-磷酸葡萄糖脫氫酶，在戊糖磷酸

途徑中 364

葡萄糖合成，與脂肪酸合成之比較

422

1,6-葡萄糖甙酶 348

麩氨酸鹽穿梭 461

麩氨酸鹽合成酶在氮同化中 509, 536

麩氨酸，（2-氨基戊二酸），之分子

式 90

之合成 536

麩氨酸脫氫酶

在氮同化中 508

在脫氨基作用 527

麩氨酸轉氨基酶 526

麩醯胺酶，脫氨基作用 531

麩醯胺，之最後產物，代謝作用 646

之分子式 89

之代謝任務 645, 646

之合成 534~536, 602

麩醯胺合成酶 602

在氮同化中 508~509, 534

之化學的修正 645

之調節 644~649

之調節機程 645

γ -穀醯基半胱氨酸合成酶 603

麩胱甘肽，之分子式 106

之合成 603~604

麩胱甘肽過氧化酶，催化反應 273

麩胱甘肽還原酶，催化反應 231

麩胱甘肽合成酶 603

D-甘油醛，為參考化合物 34

3-磷酸甘油醛 367

3-磷酸甘油醛脫氫酶

在糖酵解中 326

之分子量 215

DL-甘油酸，之pKa 21

sn-甘油基3-磷酸脫氫酶 346

sn-3-磷酸甘油穿梭 434

α -丙三基醚 75

甘氨酸核糖核甙 557

甘氨酸，之分子式 89

在馬尿酸合成中 604

甘氨酸-絲氨酸相互轉變 254

糖原 59

之結構 60

糖原磷酸化酶之化學的修正 645

糖原合成酶之化學的修正 645

乙醇酸，羧基醋酸在光呼吸作用中

497

糖脂 77

糖酵解，在輔酶均衡中 340

生物合成的中間物 342

之定義 320

製備的相 339

之反應 321~334

之調節 355, 639

之任務，在脂肪酸合成中 415~418

糖酵解順序之酶類 341

之反轉 335

糖甙 123

甙(配糖物)形成 51

乙醛酸 392

乙醛酸循環，之性質 391~392

乙醯醯體，在酶中 308

在植物中 393

高爾基器官，之描述 307

之任務 288, 307

短桿菌肽，一種非聯偶劑 449

短桿菌肽-S 605

之分子式 91

葛蘭姆-負性的菌類 284

葛蘭姆-正性的菌類 284

- 血漿膜，之成分 291
- 色素粒，（葉綠體基粒） 305
- 原子團（基）特性，種群專一性 198
- 原子團（基）易位，種群易位之機程 310
- 之模式 312~313
- 胍基磷酸鹽 170
- 鳥嘌呤，之分子式 132
- D-古羅糖 40
- H
- H_2S 518
- 半反應 175
- Hatch-Slack 途徑，在光合成中 491
- Haworth 分子式 44
- 熱含量 160
- 熱不活性，差別的 685
- α -螺旋的結構，之圖型 112
- α -螺旋性，之破壞安定作用 109
- 螺旋結構，在氨酸中之任務 110
- 螺旋斷裂物 110
- 正鐵血紅素合成，之調節 553
- 半縮醛，之形成 40
- 半纖維素 61
- 在植物細胞壁中 288
- 血銅朊 459
- 血紅朊 125
- 之緩衝作用 25
- 之螺旋含量 120
- 血紅朊 A 633
- 血紅朊 S 633
- Henderson-Hasselbalch 方程式 14
- 非均態第四結構 116
- 寡多糖類，之定義 29
- 已糖激酶，在糖酵解中 321
- 在代謝的調節作用中 637
- 之分子量 215
- 高密度脂朊 399
- Hill 反應 472
- Hill 試劑 472
- 馬尿酸，之合成 603
- 組織胺，之產生 98,532
- 組氨酸，為一種金屬配位子 113
- 之分子式 90
- 之磷酸化形式 113
- 含組氨酸之蛋白質 311
- 組朊 155
- 之束合 155
- 之性質 155
- HNO_2 ，在突變形成中 590
- DNA 聚合酶 III 之完全酶 582
- 同熱動物 295
- 同質第四結構 115
- 尿黑酸 633
- 同- γ -亞麻酸 427
- 均聚糖類，之定義 29
- 激素 126
- 激素敏感的脂酶
- 在脂質代謝中 401
- 人類血紅朊，之成分 633
- 玻璃（糖醛）酸 62
- “混成” DNA 141

- 混成作用 150
- 氫鍵 4
- “氫-給予”成分 504
- 硫化氫，之併入 518
- 水解酶，之定義 199
- 在溶酶體中 305
- 在植物細胞壁中 288
- 氫過氧化物 71
- 氫過氧化物，之移除 273
- D- α -氫過氧化脂肪酸 409
- 疏水的相互作用 81
- D(-) β -羥醯基 CoA 406
- L(+) β -羥醯基 CoA 脫氫酶 407
- D- α -羥丁酸，酮體 415
- 羥胺（胺）在突變形成中 590
- 羥胺還原酶 512
- β -羥- β -甲基戊二醯-CoA 在膽甾醇
 生物合成中 433
- 羥基賴氨酸，之分子式 91
- 5-羥甲基細胞嘧啶，之分子式 134
- 羥甲基糖醛 49
- 羥脯氨酸，之分子式 91
- β -羥基丙酸 413
- β -羥基丙酸脫氫酶 413
- 淺色效應 140
- 次亞硝酸鹽還原酶 512
- 次黃嘌呤，6-羥基嘌呤，之分子式 132
- I
- D-艾杜糖，之分子式 40
- 先天誤差 633
- 誘導，誘發 653
- 之模式 655~656
- 資料性的生物聚合物 577
- 抑制，之型式 640
- 起始作用，在蛋白質合成中 621
- 之 RNA 合成 598
- 70S 起始作用複合體 621
- 起始因子 1 620
- 起始因子 2 620
- 起始因子 3 620
- 起始因子，在 RNA 合成 616
- 起始劑暗碼 616
- 肌醇磷脂 75
- 不穩定性，起因於電荷拒斥 166
- 胰島素 126
- 之生物合成 628
- 之形成，由原胰島素來的 630
- 完全的蛋白質 295
- 作用子際的區域，mRNA 之 616
- 菊粉 60
- 碘乙醯胺，糖酵解之抑制 327
- 碘醋酸鹽 202
- 電離作用，離子化 10
- H₂S 之併入 518
- 流行感冒病毒 153
- 內膜 300
- 線粒體之 460
- 之性質 300
- 內膜粒子 300
- 肌酞酸，之生物合成 554~561
- 相互轉變，食物三分類之 464~465
- 中間的代謝作用，之定義 158

- 膜際之空間 302
- 內部水體積 682
- 內因子，在惡性貧血中 258
- 離子交換 679
- 不可逆抑制劑，之定義 201
- 衣烷酸，十四（碳）烯酸，之分子式 67
- Langerhans 小島狀物 628
- 異咯嗪，7,8-二甲基 233
- 異檸檬酸加成消去酶在乙醛酸循環中 392
- 異檸檬酸 380
- 異檸檬酸脫氫酶
在三羧酸循環中 380
- 異檸檬酸酶，在乙醛酸循環中 392
- 等電點的沉澱法 685
- 異功能的酶類，代謝調節 642
- 異白氨酸，之分子式 89
- 異麥芽糖，之分子式 56
- 異構酶，之定義 199
- $N^6-(\Delta^2\text{-異戊基})$ 腺嘌呤
之分子式 132
- 異戊烯腺甙 611
- 異戊烯焦磷酸鹽 78
- 在膽甾醇生物合成中 434
- 異戊間二烯，2-甲基丁二烯 78
- 同位素，用 \sim 之方法 671
- 同屬異性酶 216
- K
- β -角朮 118
- 角朮 116
- β -酮基醯基 ACP 還原酶
在合成酶複合體中 420
- β -酮醯基 ACP 合成酶，在合成酶複合體中 420
- α -酮基酸脫氫酶複合體 217
- α -氧代戊二酸 380
- α -氧代戊二酸脫氫酶，一種含類脂酸的酶 240
在三羧酸循環中 381
- α -氧代戊二酸合成酶 489
- 酮體，之形成 414
- 3-酮基神經鞘類醯胺 430
- Kiliani-Fischer 合成 35
- 動力因子，在代謝調節中 640~644
- Km，之導出 184
在預言有限步驟速率中使用 189
- Krebs 循環，見檸檬酸循環
- K 系統 212
- Kw，水之 \sim 7
- Kwashiorkor 525
- L
- LAC 操縱組 655
- α -乳白朮 218
- DL-乳酸，之 pKa 21
- 乳酸脫氫酶，心臟型 216
在糖酵解中 332
- 之同屬異性酶性質 332
- 之分子量 215
- 肌肉型式 216
- 乳桿酸，之分子式 67
- 乳糖，爲一誘發物 654

- 之分子式 56
- 乳糖操縱組 655
- 乳糖合成酶，之調節 218
- Lambert's 定律 673
- 薄片，薄層，葉綠體之 305
- 羊毛甾醇 434
 - 之膽甾醇生物合成中 432
- 月桂酸，十二（烷）酸，之分子式 67
- 質量作用定律 5
- 卵磷脂（3-sn-磷脂酰膽鹼） 74,428
- 白氨酸，之分子式 89
- 鍵結酶類，之定義 199
- 光，之能含量 476
 - 之性質 476
- 木質，木素 60
 - 在植物細胞壁中 288
- 廿四（烷）酸，之分子式 67
- 極限糊精 59,348
- 亞油酸 426
 - 之分子式 67
 - 非共軛雙鍵系統 70
 - 之戊二烯結構 70
 - 之合成，在植物中 427
- α -亞麻酸，之分子式 67
- γ -亞麻酸 427
 - 之分子式 67
- 脂酶，在溶酶體中 306
- 脂質，之分析 71
 - 之分類 66
 - 之比較性分配 82
 - 之功能 79,397
 - 之命名 71
 - 之利用 399
- 脂質過氧化物，抑制作用 271
- 雙硫辛酸，之存在 239
 - 之結構 239
- 脂多糖類，之一般結構 286
- 磷脂 81
 - 之成分 82
- 磷脂，非常低密度的 81
- 磷脂脂酶 399
 - 調節作用 400
- β -脂肪卵黃磷脂，82
- ϵ -N-脂酰-L-賴氨酸，之分子式 2
- 液體閃爍作用 672
- 肝臟，在 β -氧化作用中 404
- Lobry de Bruyn-von Ekenstein 48,323
- 對數 662
- 腔，腺腔，在消化作用中 398
- 加成消去酶，之定義 199
- 賴氨酸，生物素之束合 113
 - 硫辛酸之束合 113
 - 吡哆醛（維生素B₆醛）磷酸鹽之束合 113
 - 之生物合成 632
 - 之分子式 90
- D- α -賴氨酸變位酶之催化反應 259
- 溶磷脂酸 430
- 溶酶體 305

- 之生源說 306
 在酶類中 306
 溶菌酶，在肽糖中作用 286
 在原生質體之形成中 285
 之螺旋含量 120
 之分子量 213
 L-來蘇糖，之分子式 40
 M
 蘋果酸竈穿梭 461
 蘋果酸鹽合成酶，在乙醛酸循環 392
 L-蘋果酸 383
 DL-蘋果酸，之pKa 21
 蘋果酸脫氫酶
 在脂肪酸合成中 417~418
 在三羧酸循環中 384
 蘋果酸酶 390
 在脂肪酸合成中 417~418
 丙二酸 203, 385
 丙二醯基-CoA，在丙酸代謝中 413
 丙二醯基-CoA 脫羧基酶 413
 在代謝的調節中 638
 丙二醯基半醛，在丙酸代謝中 413
 丙二醯基半醛脫氫酶 413
 丙二醯基轉醯基酶，
 在合成酶複合體中 420
 麥芽糖，之分子式 54
 D-甘露糖醇，之分子式 51
 D-甘露糖酸，之分子式 50
 D-甘露糖，之分子式 40
 標識酶，線粒體之 300
 質量作用，之定律 6
 基質 299
 膜，之不對稱~ 296
 之相轉移 294
 膜脂質，之陳述 293
 膜蛋白質 295
 膜輸送蛋白質 310
 甲萘醌，維生素K，之結構 274
 葉肉（中形葉）細胞，之顯微照相 303
 葉肉（中形葉）細胞 491
 傳遞者RNA又稱信使RNA 138, 145
 在平移中 616
 代謝的控制，關係中之 466
 代謝的地區，之觀念 524
 金屬，在酶類中 276
 之任務 276
 金屬賦活劑 212
 金屬黃素酰，之描述 238
 N^{5,10}-甲川THF 252
 甲硫基丁氨酸，之生物合成 255
 之分子式 89
 甲二磺酸醯-tRNA 253
 甲基活化作用 259
 甲基化試劑，在突變生成中 591
 鹽基之甲基化作用 599
 5-甲基細胞嘧啶，之分子式 134
 1-甲基次黃嘌呤，之分子式 132
 N^{5,10}-亞甲THF脫氫酶 252
 N^{5,10}-亞甲THF環水解酶 252
 D-甲基丙二醯基-CoA 413
 甲基丙二醯基-CoA變位酶 413

甲基丙二醯基-CoA變位酶

一種維生素B₁₂酶 259

L-甲基丙二醯基-CoA變位酶,

催化反應 259

甲基丙二醯基-CoA消旋酶 413

N-甲基-N'-硝基-N-亞硝基胍在

變位生成中 591

N⁵-甲基THF 255

3,5-二羥3-甲基戊酸 79

在膽甾醇生物合成中 432

細胞束,在吸收作用中, 399

之形成 294

Michaelis-Menten常數之導出 184

Michaelis-Menten方程式 184

微體,之陳述 308

△居禮 671

微營養分,金屬 275

微粒體,之定義 297

中層,之形成,高爾基器官 288

在植物細胞壁中 288

中點溫度T_m 140

毫居里 297

線粒體,之陳述 300

雙膜系統 300

完全可透的外膜 300

之內膜 300

有限透過性,內膜 300

內膜,之粒子 300

之標識酶類 300

之外膜 300

之成分 291

之透過性 460

之任務,在光呼吸中 499

線粒體分區作用 393

線粒體的DNA,在基質中 302

線粒體內膜,之成分 291

線粒體基質 302

克分子吸收性,之表 675

克分子吸收指數,Am 675

分子量,之決定,藉凝膠過濾法 682

鉬鐵還原氧化體 505

單醯基甘油 73

單醯基甘油轉基酶 400

單醯基甘油脂酶,

在脂質代謝中 403

3-sn-單半乳糖醯基二醯基甘油

之分子式 78

單半乳糖基二乙醯基甘油,

在葉綠體中 83

單體酶 213

之表 213

單加氧酶 458

ω-單加氧酶,之賦活性 80

單糖類,之定義 29

單體(指染色體) 617

單價調節抑制作用 640

黏蛋白配糖肱 123

黏多糖 61

在配糖肱中 123

多重酶複合體 213

多重酶複合體 217

多發骨髓肉瘤 125

- 多重 - 受質酶系統
- 之定義 191
- 多重 - 受質反應 190
- 肌肉醛縮酶, 之分子量 215
- 突變生成, 化學的, 物理的 590
- 突變型, 之使用
- 在研究代謝中 631
- 旋光改變 39, 48
- 突變, 之機程 589
- 菌質, 之化學性質 285
- 菌質血漿膜之成分 291
- 肌紅朊, 之螺旋含量 120
- 肉豆蔻酸, 十四 (烷) 酸
- 之分子式 67
- N
- NAD⁺ 226, 228
- NADP⁺ 226, 228, 418
- NaK ATP 酶, 在細胞中任務 315
- NaK ATP 酶系統, 在細胞中之任務 315
- NaK 泵浦, 在細胞中之任務 317
- 負性效應子 640
- 負性反饋抑制作用 208
- Nernst 方程式 178
- 中性脂質 73
- NH₂-末端氨酸之鑑定 690
- 菸酸, 抗癩皮病維生素 226
- 裂口平移, 藉 DNA 聚合酶作用 - 588
- 菸醯胺, 之分子式 226
- 之存在 226
- 菸醯胺腺嘌呤二核甙酸 (NAD⁺) 226
- 作用之機程 228
- 菸醯胺腺嘌呤二核甙酸磷酸鹽 (NADP⁺) 226
- 作用之機程 228
- 之起源, 對於脂肪酸之生物合成 418
- 菸醯胺腺嘌呤二核甙酸磷酸鹽
- 焦磷酸化酶, 在核仁中 297
- 菸醯胺腺嘌呤二核甙酸磷酸鹽被還原, 在膽甾醇生物合成中 435
- 菸醯胺腺嘌呤, 還原形式之吸收光譜 232
- 在電子傳遞中 439
- 之功能 228
- 菸醯胺腺嘌呤酶, 之表 230
- 菸酸, 之分子式 226
- 之存在 226
- 茛滿三酮 98
- 硝酸鹽同化作用 512
- 硝酸鹽還原酶 512
- 硝酸鹽呼吸 513
- 硝酸鹽, 之利用 512
- 硝化作用 511
- 硝化細菌 511
- 硝酸菌 511
- 定氮酶 504
- 定氮酶活性, 之控制 510
- 定氮酶複合體 505~507
- 氮原子, 氧化數 503
- 氮均衡 523

- 氮循環，之圖解 514
 - 氮平衡 523
 - 氮排洩，之比較生物化學 541
 - 氮固定，之生態的景象 510
 - 亞硝酸菌 511
 - 葛蘭姆-負性，之顯微照片 289
 - 非生物學的氮固定 503
 - 非競爭性的抑制 204
 - 之曲線 206
 - 非環狀的磷酸化作用 481
 - 非環狀的光磷酸化作用 474
 - 非正鐵血紅素鐵蛋白質
 - 在電子傳遞中 440
 - 非氧化的脫胺作用 529
 - 非蛋白質氨基酸 91
 - 紫色非硫細菌 471
 - 非共生固氮作用 503
 - 核膜，之成分 291
 - 3'→5'核酸酶，DNA聚合酶之～
 - 588
 - 5'→3'核酸酶活性，之DNA聚合酶
 - 588
 - 核酸，之單離 139
 - 之光學性質 139
 - 核仁，之酶類 297
 - 核質 297
 - 核蛋白，核朊 155
 - 核甙，核苷，之定義 134
 - 二磷酸鹽核甙激酶 352, 568
 - 5'-二磷酸鹽核甙 137
 - 二磷酸鹽核甙，之合成 567
 - 核甙激酶 571
 - 核甙磷酸化酶 570
 - 5'-三磷酸鹽核甙 137
 - 三磷酸核甙，之合成 568
 - 核甙焦磷酸化酶 570
 - 核甙酸，之定義 135
 - 核，之描述 296
 - 營養蛋白質 126
 - 營養性貧血 250
- O
- Ogston假說 199
 - 岡崎氏 (Okazaki) 碎片 584
 - “舊黃酶” 225
 - 油酸 426
 - 之分子式 67
 - 低聚酶類 213, 214
 - 之功能 220
 - 之性質 641
 - 之重要性 219
 - 低聚蛋白質 116
 - 低聚物，之定義 215
 - 乏微素，一種非偶聯劑 449
 - 低聚糖，之定義 29
 - 操縱子結構性突變物 656
 - 操縱子基因 656
 - 相反獨特方向的反應 638
 - 視蛋白，之功能 267
 - 光學活性 32
 - 光學異構作用 31
 - Orcylalanine 分子式 92
 - 有序機程，之定義 191

- 小器官膜，化學的成分 291
- L-鳥氨酸，2,5-二氨基戊酸 92
- 鳥氨酸轉氨基甲醯酶 538
- 乳酸核甙酸 566
- 正磷酸鹽分裂 167
- 外膜，之性質 300
- 草琥珀酸 380
- α -氧化作用 409
- β -氧化作用，之能學 407
 - 螺旋圖解 405
 - 改進途徑 414
- ω -氧化作用 410
- ω -氧化系統圖解 411
- 氧化數，氮之 \sim 503
- 氧化性磷酸化作用 446
 - 之定義 439
 - 之能學 449~453
 - 之機程 454
- 氧化還原酶，之定義 199
- 加氧酶 457
 - 藉 $\sim O_2$ 之活化作用 459
- 後葉催產素 126
 - 之分子式 107
- P
- 起搏點，心搏起點，酶 640
- PAL 549
- 棕櫚酸，之燃燒 397
 - 之延長 422
 - 之分子式 67
- 胰核糖核酸酶，之作用 147
- 潘特生，雙泛醌硫乙胺，輔酶A成分
- 泛酸，之分子式 260
 - 之存在 260
- 木瓜朊酶，之螺旋含量 120
 - 之分子量 213
- 紙色析法 676
- 平行 β -起褶片層 116
- 被動的擴散，之機程 309
- Pasteur 效應 356
- 碳之途徑 483~488
- 果膠酸 61
- 果膠 61
- 果膠，在植物細胞壁中 288
- 癩皮病 227
- 青黴素，之作用 286
- 青黴素G，之分子式 108
- 五甘氨酸肽，在肽糖中 612
- 戊糖磷酸鹽途徑，之反應 363~370
 - 之任務，在脂肪酸合成中 417~418
 - 之重要性 371
- 次末碳原子 37
- PEP 羧基激酶，在光合成中
 - 見磷烯醇丙酸吸羧基激酶
- 胃朊酶，胃蛋白酶，之作用 214
- 胃朊酶原 214
 - 之轉變 653
- 肽鍵 98
 - 之結構 109
- 肽，之合成 101
- 肽類 105
- 肽糖，之結構 63
 - 之合成 612

- 肽醯部位，在核酸體中 619
 肽醯轉基酶，在肽合成中 619
 過碘酸 50
 外周蛋白質 295
 周質鍵合蛋白質
 一種外周蛋白質 295
 惡性貧血 258
 過氧化物酶 459
 過氧化作用順序 272
 過氧化體，在葉中 308
 在肝臟中 308
 之任務，在光呼吸中 499
 透視分子式 33
 pH 8
 之效應，在酶反應上 196
 相，在食物之分解代謝中 463
 苯基丙氨酸氮加成消去酶 (PAL)
 549
 苯基丙氨酸之分子式 89
 D-苯基丙氨酸，在環狀多肽中 605
 苯基異硫氰酯 100,690
 苯基酮尿 633
 磷酸基肌酸 170
 磷酸酯 53
 3-sn-磷脂酸 431
 之分子式 76
 3-sn-磷脂醯乙醇，之分子式 74
 3-sn-磷脂醯膽鹼 (磷卵脂) 428
 之分子式 74
 3-sn-磷脂醯乙醇胺 429
 3-sn-磷脂醯甘油，之分子式 75
 在葉綠體中 83
 3-sn-磷脂醯肌醇，之分子式 75
 (3-sn-磷脂醯)-3-O-L-賴氨酸甘
 油，之分子式 75
 3-sn-磷脂醯絲氨酸 81,431
 之分子式 74
 3-sn-亞磷酸乙醇 74
 磷醯魚精氨酸，之分子式 170
 磷醯肌酸 170
 磷酸二脂酶，之作用 146
 磷酸烯醇丙酮酸
 一種烯醇磷酸鹽型式 169
 磷酸烯醇丙酮酸 (PEP)
 羧基激酶 337,389,494
 磷酸烯醇丙酮酸 (PEP)
 羧酸化酶 389
 在光合成中 492
 磷酸果糖激酶，在糖酵解中 324
 在代謝調節中 638
 之分子量 215
 之調節 639
 磷酸葡萄糖變位酶 346
 6-磷酸葡萄糖酸脫氫酶
 在戊糖磷酸鹽代謝中 365
 6-磷酸葡萄糖酸內酯酶
 在戊糖磷酸鹽代謝中 365
 6-磷酸葡萄糖酸- δ -內酯 365
 磷酸甘油醯激酶，在糖酵解中 328
 磷酸甘油醯變位酶
 在糖酵解中 329
 磷酸甘油酸，在光吸收中 498

- 磷酸己糖異構酶
 在糖酵解中 323
 磷酸酮基戊糖差向異構酶
 在戊糖磷酸代謝中 366
 磷脂酶，在溶酶體中 306
 磷脂類 76
 之生物合成 428
 磷酸單酯酶，之作用 147
 4'-磷酸潘特生
 一種輔酶A成分 260
 在環狀多肽生物合成中 606
 在合成酶複合體中 419
 磷蛋白質磷酸解酶 650
 磷光 477
 磷酸核糖異構酶
 在戊糖磷酸代謝作用中 365
 α -5-磷酸核糖-1-焦磷酸鹽(PRPP)
 555
 磷酸化酶 348
 之作用 349
 在代謝調節中 639
 磷酸化酶a 650
 之分子量 215
 磷酸化酶b 650
 磷酸化酶b激酶 351, 356, 651
 之化學的改進 645
 磷酸化酶磷酸酶 350
 磷酸化作用，環狀的 482
 磷酸化作用，非環狀的 481
 磷酸鹽鹼 428
 磷醯-HP_r 311
 光磷酸化作用 473
 光吸收作用
 過氧體之~ 308
 光合成，之器官 474
 之黑暗反應 470
 之定義 469
 之發展 469
 之光有關的相 470
 之量子要求 488
 之調節 495
 光系統I 478
 光系統II 478
 藻青色，之分子式 426
 植酸，之代謝作用 410
 之氧化作用 409
 葉綠醇，植醇 409, 474
 乒乓機程 191~193
 pK_a，之決定 21
 植物細胞壁，之描述 288
 植物細胞，之脂質成分 82
 植物，脂肪酸之延長 423
 血漿糖甙 123
 血漿膜 291
 之化學成分 291
 在接受者部位上 651
 質脂 74
 胞間連絲，之描述 288
 質體青 481
 質體醌 480
 P:O每率 448
 變溫動物 295

- 基因點突變，之性質 634
- 脊髓灰質尖病毒 153
- 聚脫氧核糖核甙酸
 - 之結構 130
- 聚合酶 IV 598
- 聚合酶活性，
 - DNA 聚合酶之～ 588
- 聚核甙酸磷酸化酶 599
- 聚肽類，之化學合成 628
 - 之分子式 108
 - 在氫鍵中 109
 - 之固體相合成 103
- 聚苯基丙氨酸，暗碼，藉聚 U 613
- 聚核糖核甙酸，之結構 130
- 聚糖類，多糖類 57
 - 之定義 29
 - 儲存 57
 - 之利用 347
- 聚體，多體 618
 - 之描述 299
- 聚不飽和脂肪酸，之任務 427
- 葉吩，樸吩 550
- 無色卟吩膽色元，卟啉先質 552
- 樸啉，生物合成 550
- 樸啉 A，之分子式 444
- 位置的異構物 30
- 正性合作性 209
- 正性應效子 640
- 沈澱，藉有機溶劑 685
- 引物，初形物，之定義 579
- 羧基肽酶 A 原 214
- 准核的，之定義 283
- 准核的細胞壁 285
- 准核的細胞，之比較
 - 與真核的 284
 - 之脂質成分 82
 - 在代謝調節中 636
- 生成物抑制作用 640
- 彈性酶原 214
- 酶原，之轉變 651
- 原激素，之轉變 651
- 胰島素原 628
 - 至胰島素，之轉變 653
 - 之圖解，轉變至胰島素 630
- 投影分子式 33
- 脯氨酸，如螺旋斷裂者 110
 - 之分子式 89
- 發動基因，促動劑範圍 655
- 發動基因部位 598
- 丙酸，之分子式 67
 - 之氧化作用 413
- 丙醯基-CoA 羧酸酶 413
 - 一種生物素酶 242
- 前列腺素 (PGE₂)，之分子式 67
- 前列腺素 84
 - 之分子式 427
- 輔基，非肽基 212
- 蛋白質，之化學合成 628
 - 之成分 86
 - 之水解 86
 - 做為能量之儲存形式 398
 - 第一結構 114

- 第四結構 115
 第二結構 114
 第三結構 115
 蛋白質型態 115
 蛋白質結構，在二硫化物鍵聯中 115
 在靜電的相互作用中 115
 在氫鍵中 115
 在疏水性相互關係中 115
 在非共價鍵中 115
 蛋白質合成 620~628
 之成分 607
 之起始 621
 之成分表 620
 蛋白質激酶 256, 650
 凝血酶原 274
 原粒 116, 215
 原生質體 284
 原卟啉 IX 443, 550
 之生物合成 553
 原維生素 D, 269
 PRPP (α -5 磷酸核糖 -1- 焦磷酸鹽) 555
 擬尿核甙，之分子式 134
 吐根素，鞘氨醇半乳糖甙之分子式 77
 嘌呤類 132
 之生物合成 554~563
 普朗抗血素，之抑制作用，在蛋白質合成中之延長 623
 蛋白質合成 626
 紫細菌 470
 紫硫細菌 471
 腐肉胺 156, 296
 吡喃 41
 吡哆醛，維生素 B₆ 醛，之分子式 246
 吡哆醛脫氫酶 (NAD⁺) 247
 吡哆醛磷酸鹽
 生化的功能 247
 之形成 247
 吡哆醛磷酸鹽脫氫酶 247
 吡哆胺，之分子式 246
 吡哆胺磷酸鹽 247
 4-吡哆酸 247
 吡哆醇，之分子式 246
 嘧啶生物合成 564~567
 嘧啶類 132
 焦磷酸鹽斷裂 167
 焦磷酸鹽化合物 164
 丙酮酸鹽脫氫酶複合體之電子顯微照片 219
 丙酮酸鹽，磷酸鹽二激酶在光合成中 492
 丙酮酸，之 pK_a 21
 丙酮酸羧酸酶 336, 388
 一種生物素酶 242
 在脂肪酸合成中 415~418
 丙酮酸脫羧酸酶，在糖酵解中 333
 丙酮酸氫酶 217~218
 之化學的改進
 之描述 240
 在脂肪酸合成中 415~418
 之調節 387

- 丙酮酸脫氫酶複合體在三羧酸循環中 376
- 丙酮酸激酶，在糖酵解中 331
- 在代謝調節中 638
- 之分子量 215
- 丙酮酸合成 489
- Q
- 二次方程式 661
- 醌類，在電子傳遞中 441
- R
- R_f ，之定義 677
- 消旋酶類 198
- 消旋作用，之一般反應 248
- 之機程 249
- 放射性同位素 671
- 之表 671
- 無序機程，之定義 191
- 接受者部位，對於激素類 651
- 還原糖類，之定義 49
- 還原相，在 Calvin 循環中 484
- 還原位勢 175
- 之表 177
- 還原性羧酸化作用 489
- 參考碳原子 37
- Refsum氏病 409
- 再生相，在 Calvin 循環中 487
- 調節酶，之化學的改進 644
- 調節性基因部位 209, 641, 655
- 調節性蛋白質 PII 647
- 釋放因素 598
- 修補機程 592
- 重複，模寫，之定義 577~578
- 之起始作用 582
- 重複，模寫，之機程 580~588
- 阻遏 653
- 模式 656
- 呼吸鏈鎖，之組成 445
- 呼吸鏈鎖磷酸化作用之定義 439
- 網膜醇，之結構 266
- 網膜醇毒性 267
- 迴流電子流 454
- 回復轉寫，之定義 578
- 之機程 587
- 可逆的抑制作用 203
- L-鼠李糖，之分子式 47
- 視紫，之功能 268
- 紅硫螺旋狀赤色細菌
- 光合成中 471
- 核糖醇 teichoic 酸，之分子式 286
- 核糖黃素，缺乏症 234
- 之分子式 233
- 之存在 225, 234
- D-核糖呋喃糖，之分子式 46, 129
- 核糖核酸酶，之作用 144
- T_1 -核糖核酸酶，之作用 147
- 核糖核酸酶，之螺旋含量 120
- 之分子量 213
- 核糖核酸酶，在溶菌體中 306
- 二磷酸核糖核甙還原酶 569
- D-核糖，之分子式 40
- 核酸體的 RNA 138, 145
- 核酸體承認之部位，在 tRNA 中 612

核酸體，之描述 299

之生物合成 619

之性質 299, 617~619

之RNA含量 151

之沉降值 618

1,5-二磷酸核酮糖在光呼吸中 497

核酮糖二磷酸鹽羧基酶，之動力參數
188

D-核酮糖，之分子式 47

5-磷酸-D-核酮糖

在戊糖磷酸鹽代謝中 366

Rifampicin(一種新發現之黴類)

596

重複抑制作用 582

RNA，之生物合成 594

之酶的水解 147

之水解 144

非均態核的 617

之改進 599

之結構 144

RNA酶，在核仁中 297

mRNA，之不安定性 617

5S RNA，之合成 598

tRNA^{gly} 612

tRNA，之氨基醯基化作用 610

之合成，在真核質中 598

酵母苯基丙氨酸，之圖解模式 150

酵母苯基丙氨酸，之順序 149

RNA聚合酶，葉綠體

有關DNA的 598

大腸菌 594

RNA之合成 597

之相互作用部位 655

在核仁中 297

RNA聚合酶I，在轉寫中 598

tRNA甲基酶類 610

芸香黴素(一種非偶聯劑) 449

S

修復途徑 570

皂化作用 68

Schiff 鹽基，之性質 248

裂殖釀母菌，真核細胞，之顯微照片
290

壞血病 264

第二傳遞者 649

沉降速度之研究 689

D-景天庚醛糖，之分子式 47

7-磷酸鹽景天醛糖 367

選擇性的吸收作用 685

硒，飲食的 273

在麩胱甘肽過氧化酶中 273

半守恒重複 580

“意義”股 595

連續反饋抑制作用 643

連續相互作用模式 209

連續性法則 35

絲氨酸，為一親核試劑 113

L-絲氨酸，為一參考化合物 88

絲氨酸，之分子式 89

之磷酸化形式 113

在解脲酶中 113

- 絲氨酸脫水酶，在脫胺作用中 530
- 絲氨酸 - 甘氨酸互相轉變 254
- 絲氨酸胺酶類 214
 - 之抑制作用 202
- 脛色胺酸胺，之產生 532
- 血清白胺 123
 - 之緩衝能力 123
 - 之功能，在脂質代謝作用中 401
 - 之滲透壓 123
- 穿梭，sn-3-磷酸甘油 451
- 鑷形細胞貧血 633
- Sigma 因子，S 字形因子 596
- S 字型動力，別樣酶
 - (反效酶) 之 ~ 209
- 絲纖維 116
- 天花病毒 153
 - sn，立體有擇數 72
- 蛇毒磷酸二酯酶之作用 147
- 固相肽合成之圖解 104
- 山梨糖醇，之分子式 51
- 比活動度，比放射性 189
 - 之定義 671
- 旋光率 32
- 分光光度測定 673~675
- 精脛 296
 - 之結構 296
- 精胺 156, 296
 - 之結構 296
- 球質體 285
- D-神經鞘類醯胺 76, 431
- 4t-神經鞘類醯胺 431
- 4-神經鞘類醯胺 76
- 神經鞘類脂 76
 - 之生物合成 430
- 神經鞘磷脂 432
 - 之生物合成 430
 - 之分子式 77
- 神經鞘乙醇 76
- 脾磷酸二酯酶，之作用 147
- 角鯊烯，在膽甾醇生物合成中
 - 433~434
 - 之分子式 79
- 生成物之安全性，藉電離作用 165
 - 藉異構作用 165
 - 藉共振 165
- 安定同位素，之測定 672
- 標準還原位勢 178
- 標準狀態 162
- 澱粉 57
- 穩定態 185
- 穩定態動力學 184
- 硬脂酸，之分子式 67
- 硬脂醯基-CoA 脫飽和酶之活化作用
 - 80
- 立體異構現象 29
- 立體有擇數 72
- 計量化學的，問題 664
- 基質 305
- 基質層片，之葉綠體 305
- 強電解質，之解離作用 10
- 結構的基因 655
- 結構的異構現象 29

次線粒體的複合體

在呼吸鏈鎖中 440

受質濃度，之效應 182

受質階段磷酸化作用 447

枯草菌溶素，之螺旋含量 120

次單位，之定義 214

琥珀酸 382

之 pKa 21

琥珀酸脫氫酶，之抑制作用 203

之動力參數 188

藉催化的反應 223

在三羧酸循環中 382

琥珀酸硫激酶，在三羧酸循環中 382

O-琥珀醯基高絲氨酸

琥珀醯基-CoA 381

在丙酸代謝中 413

琥珀醯基-CoA 合成酶之動力參數
188

蔗糖，之分子式 56

蔗糖梯度 684

糖核甙酸，之任務 351

糖類，之傳遞 310, 316

硫酸酯酶，在溶菌體中 306

硫酸鹽活化作用 513

硫酸鹽還原作用 516

硫酸鹽呼吸作用 519

硫化物氧化酶 519

硫脂 77

3-sn-磺醯-6-脫氧葡基

二醯基甘油，之分子式 78

硫奎諾基二醯基甘油，在葉綠體中 83

硫磺，之氧化數 513

硫循環 513

超氧化物歧化酶 459

Svedberg 單位 (S)，之定義 689

共生的氮固定 504, 507

對稱模式 209

合成酶

有關 ATP 之合成酶部位，在 tRNA
中 612

T

D-塔羅糖，之分子式 40

塔日酸，十八(碳)炔-[5]-酸 67

Tay-Sachs 病 634

Teichoic 酸聚合物，之成分 285

在肽糖中 285

溫度，之效應，在酶反應中 193

模樣，樣板，之定義 579

終結氧化酶 444

終結作用 585, 626

RNA 合成之~ 598

終結暗碼 616, 626

類萆類 78

四氫葉酸 (THF)，之分子式 251

熱的傳導性細胞 675

熱變性 196

硫胺素，之結構 244

硫胺素焦磷酸鹽，之分子式 244

之功能 245

薄層色析法 (TLC) 678

硫酯酶，在代謝調節中 636

- 硫激酶，在代謝調節中 638
 硫醇酶 407
 硫酸酯 170
 硫基還原氧化體
 在脫氧核糖酸合成中 568
 4-硫尿嘧，之分子式 134
 蘇氨酸，之分子式 89
 息寧氨酸脫水酶，在胺作用中 530
 蘇氨酸氨基甲酰腺嘌呤之分子式 132
 蘇糖，之分子式 36
 5'-磷酸-胸腺嘧啶核甙之生物合成 254
 胸腺嘧啶核甙醯合成酶 254, 569
 胸腺嘧啶，之分子式 133
 滴定曲線 18
 菸草斑紋病毒 150
 母生育酚， γ -(7,8 二甲基) 271
 β -(5,8 二甲基) 271
 δ -(8-甲基) 271
 5,7,8-三甲基 271
 α -生育酚 271
 爲一鏈之斷裂物 272
 α -生育酚醯 272
 之分子式 272
 轉醛縮酶，在戊糖磷酸鹽途徑中 369
 氨基移轉作用 525
 之一般反應 248
 之機程 249
 反型-肉桂酸 549
 轉寫作用，不對稱的 596
 之定義 577~578
 之調節 653
 對稱的 596
 轉寫作用因子 ψ 599
 轉基酶，之定義 199
 移轉者 RNA (tRNA) 137, 144
 之功能 610
 在蛋白質合成中 608
 轉變狀態 193
 酮糖移轉酶，在戊糖磷酸代謝中 367
 轉變，之定義 577~578
 蛋白質合成中 607
 轉變部位程序，在蛋白質合成中 623
 輸送程序，之機程 309
 反型-D-神經鞘類醯胺 431
 轉磺醯作用 546
 三醯基甘油 73
 之降解 397
 之在合成中之酶類 402
 之皂化作用 68
 三羧酸循環，之證明 386
 歷史的景象 374~376
 之抑制劑 385
 之反應 379~384
 之調節 387
 之化學計量學 384
 三羧酸循環中間物，
 之氧化作用 386
 三糖磷酸鹽脫氫酶，之動力的參數 188
 三糖磷酸鹽異構酶，在糖酵解中 326
 三磷酸吡啶核甙酸 (TPN⁺) 226,

三重螺旋 116

氚 (^3H) 673

胰朢酶 213

之作用 214

之使用, 在蛋白質順序中 693

胰朢酶原 214

至胰朢酶, 之轉變 653

色氨酸, 之分子式 89

色氨酸合成酶 216

變轉率, 蛋白質之 652

短桿菌酪素, 之分子式 106

酪氨酸, 之分子式 90

酪氨酸殘基, 之腺式基化作用 647

U

普醃 441

UDP-半乳糖焦磷酸化酶 343

UDP-葡萄糖差向異構酶 344

UDP-葡萄糖, 果糖-6 磷酸鹽轉葡

糖基酶 352

UDP-葡萄糖-果糖

轉葡萄糖基酶 352

UDP-葡萄糖焦磷酸酶 344

超遠心分離 687

紫外輻射線, 突變生成 592

非競爭性抑制作用 204

之曲線 207

非偶聯劑 449

十一碳 prenyl 磷酸鹽 80

不飽和脂肪酸, 之生物合成 424

之氧化作用 412

之任務 427

未纏捲蛋白質, 在複製中 582

脲園, 之分子式 133

尿素循環 538

之圖解 542

脲基琥珀酸 564

尿酸, 之分子式 544

尿酸酶 544

尿核式二磷酸鹽, 見UDP

尿核式二磷酸鹽葡萄糖之分子式 138

5'-磷酸-尿核式 566

5-三磷酸尿核式 567

尿式醣轉基酶 345

尿式醣作用-脫尿式醣系統 649

尿式醣移除酶 647

尿式醣移轉酶 647

V

順型-異油酸, 之分子式 67

順型-異油酸, 在細菌中 70

纈氨酸, 之分子式 89

纈氨基黴素 (一種新發現之黴類)

449

Van Niel 假說 472

垂體後葉加血壓激素 126

之分子式 107

維爾烯酸, 之分子式 67

非常輕密度的脂蛋白質 (VLDL)

399

病毒 153

維生素, 之定義 223

維生素A, 之分子式 265

維生素 A，之存在 266

維生素 A₁，之功能 267

維生素 B₁，之分子式 244

維生素 B₆之存在 246

維生素 B₆基，之結構 246

維生素 B₁₂，之功能 258

存在 257

之結構 256

維生素 C，之分子式 263

維生素 D₃ (膽鹼鈣化醇) 269

之功能 269

維生素 D，之結構 269

維生素 E，之功能 271

之存在 236

之強反氧化物活性 271

維生素 E 基，之結構 271

維生素 K，之功能 274

存在 274

之結構 273

維生素類，之關係

輔酶 223

無效體積 682

V 系統 212

W

水，之解離作用 7

之熔解熱 5

之汽化熱 5

之離子積 6~7

之性質 3

之比熱 4

蠟質 73

弱酸，之解離作用 11

弱鹼，之解離作用 12

Wobble，在基本三體中 615

X

黃質氧化酶 543

黃嘌呤，之分子式 562

着色性乾皮病 593

眼乾燥病 266

X-射線輻射，突變生成 592

D-木糖，之分子式 40

D-木酮糖，之分子式 47

5-磷酸-D-木酮糖 370

Y

黃色酶 224

Z

Z-圖解 477

中間酶，6-磷酸葡萄糖脫氫酶 224

兩性離子分子式 93

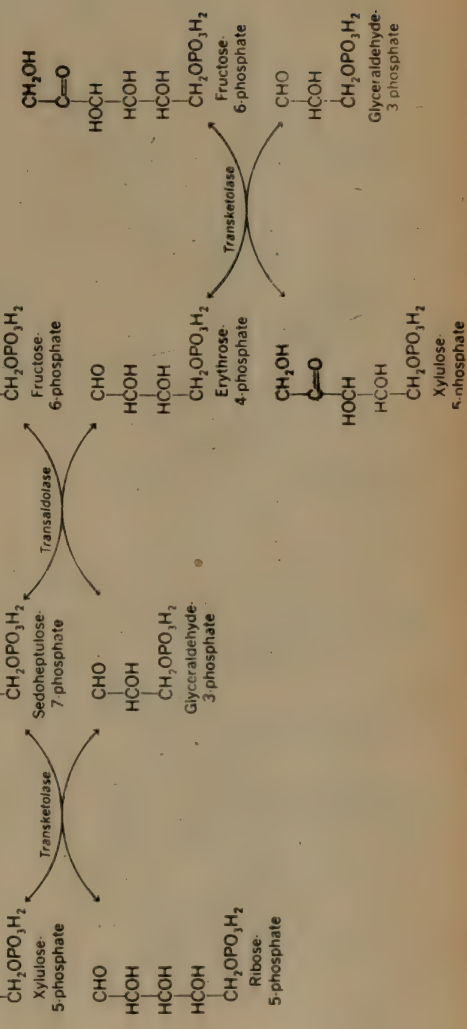
酶原 213

轉變為活性酶類 213

之性質 653

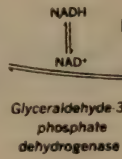
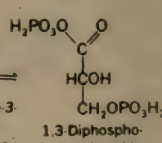
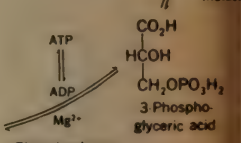
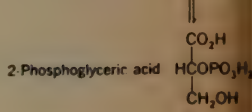
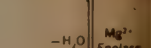
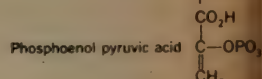
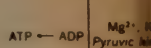
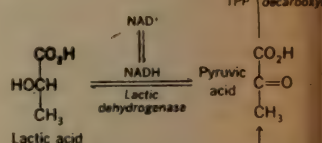
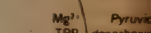
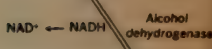
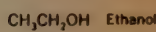
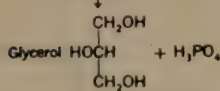
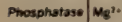
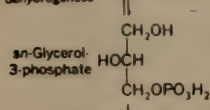
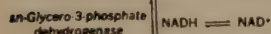
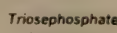
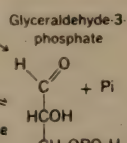
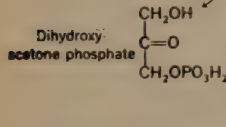
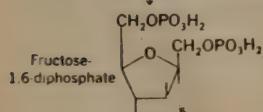
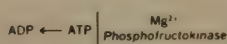
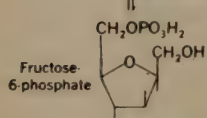
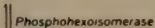
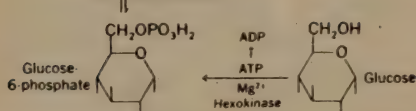
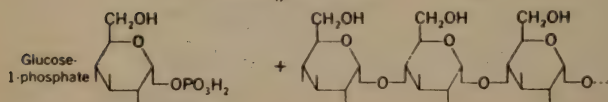
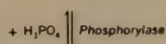
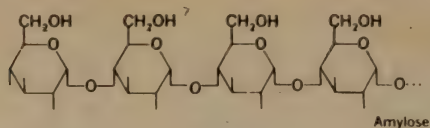
酵母甾醇 434

戊糖磷酸鹽代謝作用

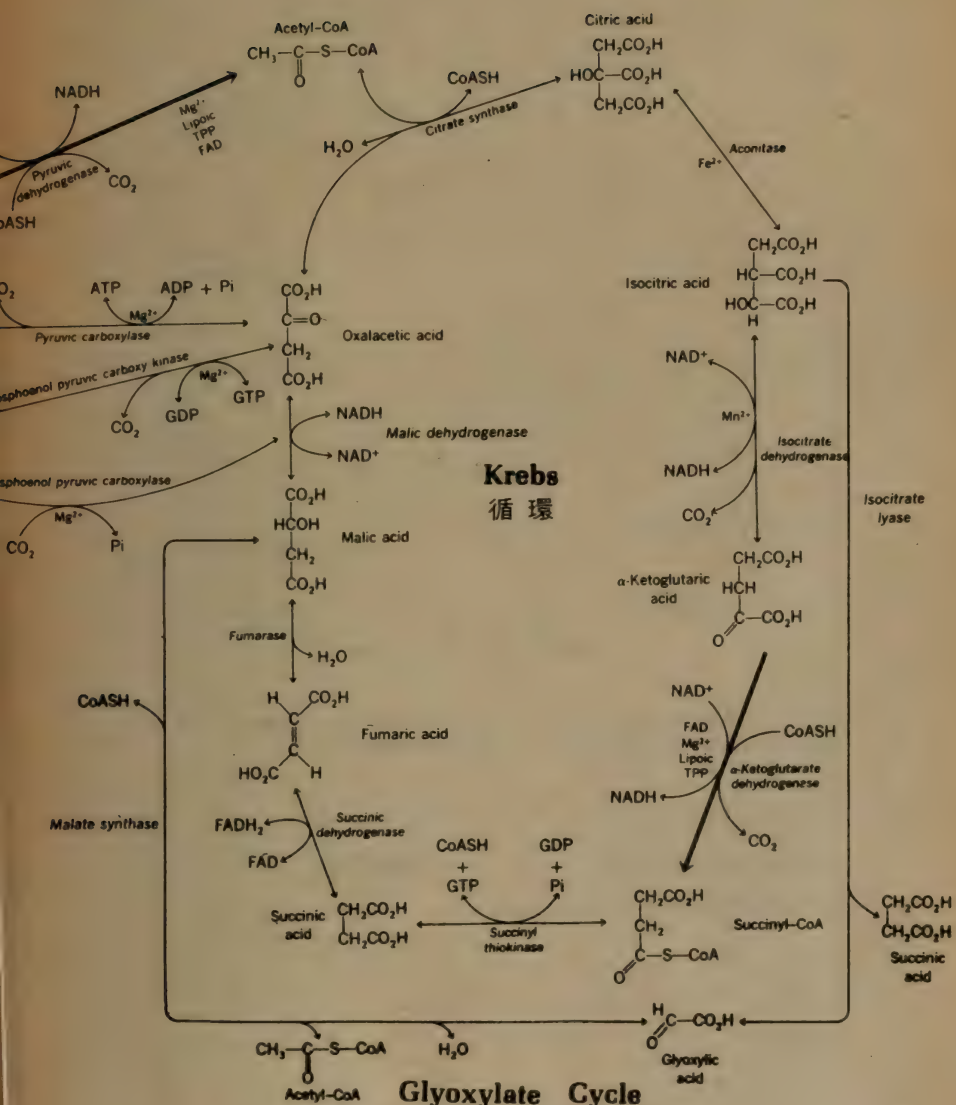


Glycolysis and Alcoholic Fermentation

糖酵解及酒精酸酵

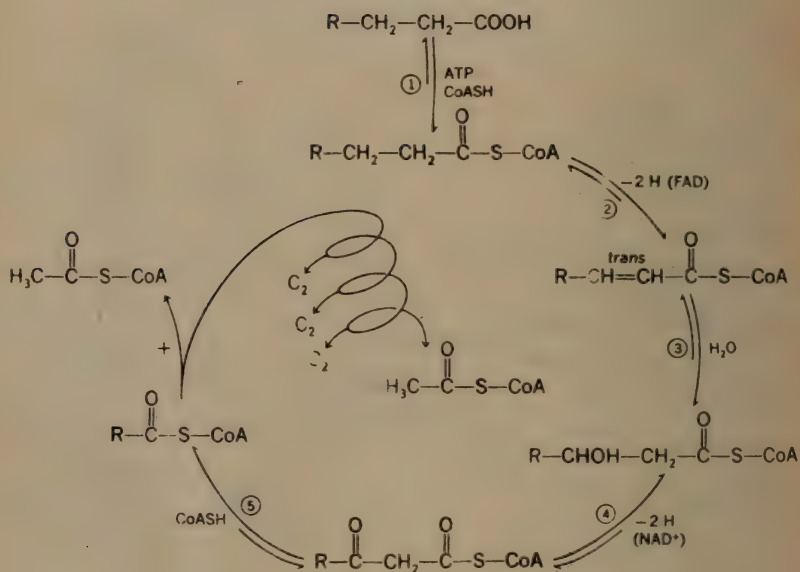


社會貫通弱電解質之電離作用以後才可以討論緩衝溶液。一緩衝溶液



The β -Oxidation of Fatty Acids

脂肪酸之 β - 氧化作用



① Fatty acid thiokinases

② Fatty acyl-CoA dehydrogenases

③ Enoyl hydratase

④ β -Hydroxyacyl dehydrogenase

⑤ β -Ketoacyl thiolase

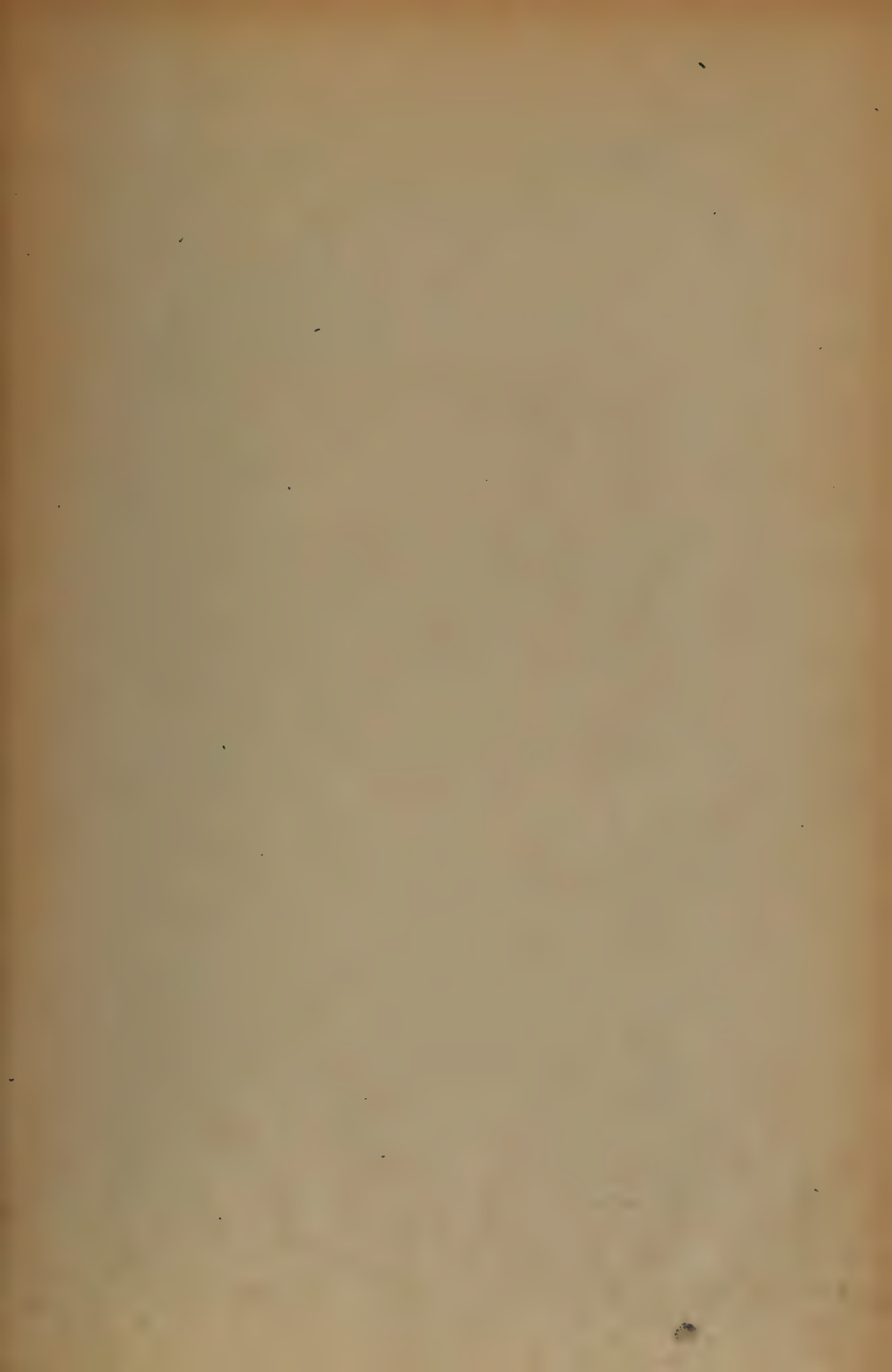
① 脂肪酸硫激酶

② 脂肪酸基 - CoA 脱氢酶

③ 烯醇基水化酶

④ β - 羟酰基脱氢酶

⑤ β - 酮酰基硫激酶



1896

1896

1896

1896

中科院植物所图书馆



S0014726

收到期	1979.8.18.
来源	2051
书价	7.30 元
单据号	0010387
开票日期	1979.8.18.

北京植物所

58.173

496

22175

生物化学人

借 者	借 期	借 者	借 期
徐 88 8.28			
189 09 05 29			

58.173

496

注 意

請勿在书上批改圈点，

22175

折角。

植物所圖

File # 730

